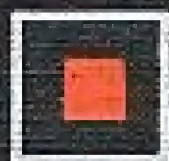


В. П. КАЗНАЧЕЕВ - Л. П. МИХАЙЛОВА

СВЕРХСЛАБЫЕ ИЗЛУЧЕНИЯ В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

В. П. КАЗНАЧЕЕВ, Л. П. МИХАЙЛОВА

СВЕРХСЛАБЫЕ
ИЗЛУЧЕНИЯ
В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
Новосибирск - 1981



Казначеев В. П., Михайлова Л. П.
Сверхслабые излучения в межклеточных взаимодействиях. — Новосибирск: Наука, 1981.

В монографии излагается концепция информационных межклеточных взаимодействий в рамках электромагнитного канала связи. Приводятся экспериментальные данные о биологической значимости собственного сверхслабого излучения клетки, обусловленного экстремальным воздействием биологических, химических и физических агентов в дистантных межклеточных взаимодействиях. Описывается комплекс методических подходов для регистрации сверхслабого излучения клетки в условиях дистантных межклеточных взаимодействий и его прогностической оценки. Показаны перспективы использования источника ценной информации о физиологическом состоянии клетки, целостности и нарушении их структур.

Книга рассчитана на специалистов в области биофизики, биологии, биохимии.

Табл. 35. Ил. 55. Библиогр. 260.

Иван Ильич Казначеев, Людмила Павловна Михайлова

СВЕРХСЛАБЫЕ ИЗЛУЧЕНИЯ В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

Ответственный редактор *Николай Романович Деряпа*

Утверждено к печати Научно-исследовательским клипическим центром
 СО АН СССР и Сибирским отделением АМН СССР

Редактор Т. А. Пикитина. Художественный редактор В. П. Желнин

Художник А. Г. Иерх. Технический редактор А. В. Семкова

Корректоры С. В. Балинова, Л. Л. Михайлова

ИБ № 10773

Сдано в набор 21.03.80. Подписано к печати 25.02.81. МН-03014. Формат 60×90^{1/16}.
 Бумага типографская № 2. Обыкновенная гарнитура. Высокая печать. Усл. печ. л.
 7,5·1,5 на мел. бум. Усл.-кр.отт. 9. Уч.-изд. л. 10,2. Тираж 2800 экз. Заказ 96.
 Цена 1р. 40к.

Издательство «Наука», Сибирское отделение. 630099, Новосибирск, 99, Советская, 18.
 4-я типография издательства «Наука». 630077, Новосибирск, 77, Сташиславского, 25.

К $\frac{21007}{055(02)} - 763$ 549.81.2003000000.

© Издательство «Наука». 1981 г.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Современная биология достигла значительных успехов в познании многообразных проявлений живого; фундаментальных основ, общих закономерностей организации и эволюции жизни на Земле. Дальнейший прогресс науки о жизни требует не только все более глубокого проникновения в сущность процессов взаимодействия вещества и энергии, но и исследования информационных взаимодействий в биологических системах. Основоположник этого нового направления в изучении свойств живого А. Г. Гурвич показал возможность передачи информации из одной клетки в другую фотонами электромагнитного поля и высказал гипотезу о существовании в живых системах полей, которые он назвал «биологическими». К сожалению, это направление в наше время развивается недостаточно интенсивно. Проблемы передачи биологической информации, записи и хранения ее как в клетках, так и между клетками и органами в настоящее время приобретают первостепенное значение. Управление известными обменно-трофическими процессами, преобладающими как внутри клеток, так и в целом организме животных и человека, невозможно объяснить только нейрогормональными и гуморальными (биохимическими), а также известными биофизическими факторами (изменение различных потенциалов, градиентов и др.). Необходимы поиски иных, более эффективных каналов связи. Вместе с тем еще в ранних работах отечественных ученых (А. Г. Гурвич, Э. С. Бауэр, В. И. Вернадский, А. Л. Чижевский и др.) обоснованно поднимались вопросы термодинамической характеристики процессов жизни, предпринимались попытки изучения информационных механизмов, специфически присущих жизненным явлениям. Факт существования сверхслабого электромагнитного излучения в настоящее время общепризнан и экспериментально обнаружен у всех исследованных клеток растений и животных. Как оказалось, так называемое спонтанное свечение биологических объектов является универсальным свойством живых клеток [Тарусов, 1965; Журавлев и др., 1961, 1975; Мамедов, 1976; Баренбойм, 1966; Владимиров, 1966; Марченко, 1973; Коцев, 1965; Рорр, 1979]. Дискуссионным остается положение о сигнальной функции этого излучения.

В настоящей книге рассматриваются литературные и данные собственных экспериментальных исследований возможности передачи биологической информации посредством сверхслабого электромагнитного излучения. В течение длительного времени авторы с сотрудниками занимаются проблемой «Сверхслабые излучения в межклеточных взаимодействиях». Накоплен большой экспериментальный материал, дающий возможность сделать определенные выводы о наличии дистантных межклеточных электромагнитных взаимодействий (электромагнитная биоинформация). Изучая много лет сверхслабые излучения в клетках и тканях животных и человека, мы пришли к выводу, что этот феномен требует углубленного изучения не только в биофизическом аспекте, но и в кибернетическом плане. Рассматривая же сверхслабое излучение живой клетки с кибернетической (информационной) точки зрения, можно предполагать, что управление биологическими процессами есть одна из основных функций электромагнитного излучения, испускаемого живыми системами. Излучение регистрируется физическими методами, т. е. может быть идентифицировано как электромагнитное (определенной частоты, очень низкой интенсивности). Эти и другие термины, связанные с излучением, заимствованы из физики и сохраняют свой физический смысл. Термин же «биополе», заимствованный из физики А. Г. Гурвичем, пока не может быть идентифицирован с каким-либо конкретным физическим полем (электромагнитным, акустическим или иным). Описанные нами факты неординарны и не поддаются объяснению с «признанных», известных позиций современной науки. Мы не можем с достаточной компетентностью рассматривать полученное явление дистантных межклеточных взаимодействий через оптический канал связи в кибернетическом или физико-химическом аспекте. Вместе с тем нам приходится пользоваться терминами, заимствованными из этих наук, подчас интуитивно излагая их содержание. Возможная погрешность, с точки зрения специалистов, объясняется тем, что, будучи биологами, мы предпочитали сохранить лишь биологический уровень в оценке описанного явления.

Цель этой книги — привлечь внимание к очень важной проблеме — передаче электромагнитной биоинформации. Ее решение даст возможность, на наш взгляд, наметить новые подходы к таким биологическим проблемам, как развитие, рост, механизмы старения, возникновение злокачественных новообразований. Поиски возможных путей решения таких важных задач приводят к попыткам обобщения и подведения итогов многолетних исследований, что мы и старались сделать в этой книге.

Авторы выражают искреннюю благодарность С. Б. Стефанову, оказавшему значительную помощь при морфометрической обработке наших экспериментальных результатов; Б. М. Владимировскому, сотрудникам Крымской обсерватории, и лаборатории биофизики ИКЭМ СО АМН СССР, проф. Н. Н. Воробьевой, проф. А. Н. Мосолову, сделавшим ряд ценных замечаний по данной книге.

ПРОБЛЕМА ИНФОРМАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ СВЕРХСЛАБОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

«Из невидимых излучений нам известны пока немногие. Мы едва начинаем сознавать их разнообразие, понимать отрывочность и неполноту наших представлений об окружающем и проникающем нас в биосфере мире излучений, об их основном, с трудом постижимом уму, привыкшему к иным картинам мироздания, значении в окружающих нас процессах».

В. И. Вернадский. Избр. соч.
Т. 5. М., 1960, с. 38.

Более ста лет прошло со времени разработки (1838—1840) М. Шлейденом и Т. Иванном клеточной теории строения живых организмов, позволившей объяснить многие биологические явления. Исследования, проведенные с тех пор, убедительно доказали, что всякая клетка многоклеточного организма «является тем, что она есть, лишь благодаря ее взаимосвязи со всеми остальными клетками тела» [Шмитт, 1961, с. 16].

В последние два десятилетия с помощью молекулярной биологии выявлены узловые звенья регуляции синтеза белка, определены функции ДНК и РНК, интенсивно изучаются клеточные органеллы, раскрыты принципы передачи генетической информации и т. д. Эти значительные успехи вот-вот должны были привести к окончательному раскрытию сущности жизненных явлений. Однако оказалось, что «молекулярная биология далеко не исчерпывает исследуемую область, а лишь поставляет информацию, необходимую для обсуждения новых, более широких проблем» [Ичас, 1971, с. 298]. Несомненна важность «элементарных» процессов, происходящих в клетке, однако не менее принципиален вопрос об их взаимосвязи в пространстве и времени; по-прежнему неясен вопрос о том, как и что объединяет клетки в единую функциональную систему, каковы механизмы, обеспечивающие взаимодействие клеток.

В настоящее время накоплено достаточно фактов, свидетельствующих о том, что на основе дистантных межклеточных взаимодействий (ДМВ) строится не только развитие многоклеточного организма (которое и начинается с взаимодействия двух клеток — гамет), но и его жизнедеятельность как целого. Практически все регуляторные механизмы в многоклеточном организме функционируют посредством взаимодействия клеток.

Межклеточные взаимодействия на разных этапах индивидуального развития многоклеточного организма выступают как веду-

щий механизм формирования клеточных систем, обладающих пространственно-временной упорядоченностью, и являются ведущим фактором системогенеза в клеточных ассоциациях. Накопленные в последние годы данные о существенной структурно-функциональной гетерогенности клеточных популяций, которые ранее считались достаточно однородными (миокардиоциты желудочков сердца, гепатоциты печени и т. п.), ставят вопрос о том, что кооперативное поведение этих клеточных систем, по-видимому, строится на базе межклеточных взаимодействий.

П. Вейс в 1961 г. писал: «Взаимодействия между клетками служат средством, при помощи которого клеточное сообщество организма создает и поддерживает гармоничность своей организации... Взаимодействие между клетками — это практически все, что совершается в организмах» (с. 177).

По литературным данным в настоящее время складывается представление о том, что взаимодействие клеток имеет сложный характер и осуществляется, по всей видимости, несколькими способами: химическим путем [Бузинков, 1967; Лопашев, Хоперская, 1970; Туманишвили, 1970; Языков, Вязов, 1970; Косицкий, Ревич и др., 1975; Терци, 1977] посредством взаимодействия клеточных поверхностей [Васильев, Маленков, 1968; Божкова и др., 1970], а также физическим способом взаимодействия — через излучение [Кулин, 1959, 1965, 1968; Конев, 1965, 1977; Конев, Аксенцев, Черницкий, 1970; Казначеев, Шурин, Михайлова и др., 1966, 1969, 1977, 1979], предложено несколько теорий и еще больше гипотез о межклеточных взаимодействиях.

«Химические» теории межклеточных взаимодействий оказались наиболее многочисленными и общепринятыми. Они выявляют конкретные химические факторы, несущие информационную функцию в межклеточных взаимодействиях, и им посвящено много исследований в последнее десятилетие. В работах Терци (1977) обсуждается вопрос о «возможной системе жесткого контроля» со стороны некоторых химических веществ (например, гормонов, халонов и т. д.). Дж. Иберт, в свою очередь, подчеркивал, что имеются данные, указывающие на то, что «...клетки эмбриональных тканей продуцируют и выделяют внеклеточный продукт, который обеспечивает связывание и способствует ориентации клетки при гистогенезе. При этом подходе все усилия сосредотачиваются на изоляции молекул, способных стимулировать тканеспецифичную агрегацию. Однако подчеркнем еще раз, что мы ничего не знаем о природе таких факторов, их происхождении и локализации внутри клетки или на ее поверхности» [Иберт, 1968, с. 156]. Выдвигается теория «эмбриональной индукции», в которой предполагается, что между индуктором и индуцируемой системой происходит перенос химических веществ, но о природе и специфичности этих веществ известно очень мало [Туманишвили, 1970; Терци, 1977]. Однако до сих пор проведено очень мало строгих биохимических исследований, необходимых для того, чтобы пролить свет на природу индукторов.

Г. И. Косицким, Г. Г. Ревичем (1975) развивается гипотеза о том, что между клетками может происходить постоянный обмен макромолекулами (белков и РНК), несущими специфическую информацию. Каждая клетка многоклеточного организма утрачивает способность к жизни в качестве отдельного существа, но совместно с другими клетками приобретает способность выполнять определенные высокоспециализированные функции в совершенстве. Непрерывный обмен макромолекул представляет собой особый тип коррелятивных связей в организме [Косицкий, Ревич, 1975]. Поступившие в клетку макромолекулы, являясь готовыми строительными блоками клеточных структур, кроме того, несут строго определенную специфическую информацию от клетки к клетке. Эта информация необходима для поддержания дифференцирования клетки, сохранения ее структуры и способа взаимодействия с другими клетками организма.

Согласно гипотезе М. Тейлора и П. Вейса, межклеточные взаимодействия осуществляются за счет взаимной комплементарности макромолекул на их поверхности, т. е. взаимодействие типа антиген — антитело. Иммунологические аспекты (иммунологические гипотезы) межклеточных взаимодействий играют большую роль в изучении явлений реассоциации. В некоторых тканях установлено существование дифференцировочных аллоантигенов, которые распределены по определенной схеме на клеточной поверхности. Ф. Бернет (1964, 1971) считает, что процессы иммунитета существуют для регулирования развития и для сохранения и обеспечения целостности организма, а не только для защиты организма от чужеродных антигенов. Некоторые исследователи полагают, что антиген — по своей природе индуктор, а весь процесс эмбриогенеза представляет собой по существу иммунологический процесс [Вязов, 1962].

Гипотеза о контактных механизмах межклеточных взаимодействий развивается П. Вейсом (1961), Ю. М. Васильевым, А. Г. Маленковым (1968) и др. В своих исследованиях Ю. М. Васильев и А. Г. Маленков, обсуждая вопросы, связанные со структурой межклеточных контактов, приводят данные о процессах агрегации клетки и об избирательном слипании клеток друг с другом. Рассматривается значение межклеточных взаимодействий в эмбриогенезе и регуляции размножения клеток.

Авторами показано, что способность клеток к установлению контактов друг с другом определяется в основном свойствами их поверхности, ей отводится регулирующая роль, ее состояние и состояние клеточных контактов контролируют процессы пролиферации и дифференциации клеток. Поверхность одной и той же клетки может находиться в различных состояниях. Ее переходы из одного состояния в другое вызываются внешними агентами, которые могут действовать специфически на клетки разных типов, имеющих характерное строение клеточной поверхности со специфическими рецепторными компонентами; с рецепторами, по-види-

тому, связана способность клеток к транспорту различных веществ, а также к пиноцитозу.

Характер поверхностных рецепторов определяется генетическими факторами, клетки сходного типа простейших многоклеточных тканевых структур способны к образованию агрегатов, и тогда между соприкасающимися поверхностями клеток образуются специализированные контакты. Клетки разных типов в смешанном агрегате способны к сортировке. Здесь, по-видимому, играют роль адгезивные свойства поверхности, связанные с рецепторными компонентами. В многоклеточных тканевых структурах клетки разных типов связаны между собой в единую функциональную систему. Объединение клеток зависит от состояния контактирующих поверхностей (проницаемость, пиноцитоз). Нарушение состояния контактов равнозначно нарушению проницаемости, поэтому состояние контактов имеет огромное значение для регуляции внутриклеточного метаболизма и пролиферативных процессов.

Существует еще несколько различных теорий механизма межклеточных взаимодействий: лучевая [Конев, 1965, 1970], концепция самосборки [Зусман, 1977] и др.

В действительности рассмотренные точки зрения скорее всего не исключают, а наоборот дополняют друг друга: живая природа использует различные типы межклеточных взаимодействий, оптимальные для взаимодействующих систем при соответствующих внешних условиях. К этому стоит добавить, что ни один из изученных ныне механизмов не является настолько ясным, чтобы считать его единственно возможным, а изучение других излишним.

Таким образом, множество вопросов, касающихся межклеточных взаимодействий лишь поставлено; чем больше углубляются нами знания о специальных биофизических и биохимических функциях различных компонентов клетки, тем очевиднее становится исключительная важность организации биосистемы как целого и взаимодействие клеток и клеточных ассоциаций. Эти координированные во времени и в пространстве межклеточные взаимодействия обуславливают динамические регуляторные и адаптивные свойства биологических систем. Межклеточные взаимодействия принимают участие в регуляции биосинтетических возможностей клетки, активируя или ингибируя метаболические реакции, в процессе которых образуются продукты, необходимые не самой синтезирующей клетке, а клеткам других удаленных от нее частей организма. Изучение биологической роли и конкретных механизмов различных типов межклеточных взаимодействий, как одного из уровней передачи информации в живых системах, приближает нас к раскрытию, моделированию и даже коррекции многих явлений и особенностей живых организмов.

Проблема передачи биологической информации с помощью эмиттированных биологическим объектом квантов электромагнитного излучения оптического диапазона имеет длительную историю. Факт существования собственного свечения биологических объ-

ектов в настоящее время общепризнан. Кратко остановимся на обширной литературе, касающейся этого вопроса.

Описание видимого глазом свечения живых организмов встречается в трудах Аристотеля и Плиния Старшего. В настоящее время это явление описано у 40 различных видов бактерий, грибов, беспозвоночных и рыб [Harvey, 1940] и не обнаружено среди высших растений, птиц и млекопитающих, что послужило основанием обозначить это свечение как экзотическую биолюминесценцию.

Копрад Гезнер в 1655 г. издал в Цюрихе первую книгу по биолюминесценции. Беппер в 1750 г. доказал, что свечение моря происходит за счет микроорганизмов, живущих в морской воде, а в 1853 г. Теллер доказал, что свечение гниющего мяса определяется бактериями, а свечение гнилушек — грибами.

Биолюминесценция наблюдается только в видимой области спектра. Ее спектр непрерывен и широк. УФ- и инфракрасных лучей в ней практически нет [Harvey, 1940; Свешников, 1941; Мак Элрой, Селинджер, 1962].

Начало систематическому изучению химических основ люминесценции светящихся организмов положено Рафаэлем Дюбуа [Dubois, 1893]. Он обнаружил, что видимое глазом свечение живых организмов связано своим происхождением специальной субстрат-ферментной системе люциферин — люцифераза. В последующем установлено, что существуют и другие, более сложные ферментативные процессы, характеризующие светящуюся систему живых организмов [Журавлев, 1965; Гительзон, 1965; Чумакова, Гительзон, 1975; и др.], а субстрат-ферментные системы возникают у некоторых видов на определенных этапах эволюции.

Биологическая значимость экзотической биолюминесценции рассматривается по-разному: как приспособительная [Harvey, 1940], защитная [Чумакова, 1965], рудиментарная [Мак Элрой, Селинджер, 1962] и как первичный поставщик энергии [Журавлев, 1965].

В настоящее время ведутся широкие исследования по изучению физико-химических механизмов и биологической роли экзотической биолюминесценции (Мак Элрой, Селинджер, Ханэда, Чумакова, Гительзон и др.).

Наряду с исследованием свечений, видимых глазом, уже более полувека экспериментально наблюдаются и изучаются очень слабые излучения в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Это явление представляет собой эндогенное электромагнитное излучение экзотермических биохимических процессов [Журавлев, 1965]. Излучение, связанное с неферментативными реакциями, открыто в XX столетии и вследствие его малой интенсивности ($10-10^3$ фотоц/с·см²) [Попп, 1979] называется сверхслабым. Обычно различают спонтанную (темновую или эндогенную) биохемилюминесценцию и индуцированную (наведенную), т. е. вызванную внешним физическим воздействием [Журавлев, Журавлева, 1975]. Это деление очень условно, так как спон-

тапное излучение зависит от внешних условий [Баренбойм и др., 1966]. В 1923 г. А. Г. Гурвич сообщил о пайденом им очень слабом ультрафиолетовом излучении различных живых тканей. Уловить его физическими методами в то время было невозможно, поэтому А. Г. Гурвич предложил использовать для регистрации излучений биологические детекторы (клетки дрожжей и корешков лука). Биологическое ультрафиолетовое излучение стимулировало митоз в биологических детекторах, в связи с чем и получило название митогенетического. Наиболее удобным биологическим детектором оказались дрожжи [Baggon, 1926]. Митогенетический эффект привлек к лучам А. Г. Гурвича исключительное внимание как биологов, так и физиков. А. Г. Гурвич считал, что раковая ткань, корешки лука и бобов, мозг, кровь и ткани глаза высвечивают УФ. Эффект высвечивания он определял по влиянию излучения на почкующиеся клетки дрожжей. Основной митогенетический эффект по Гурвичу указывает на зависимость акта клеточного деления от поглощения ультрафиолетовых фотонов. Поглощение фотонов дает начало цепной реакции с большим квантовым выходом. Цепная реакция приводит к образованию радикалов, рекомбинация которых в свою очередь вновь является источником митогенетического излучения.

А. Г. Гурвич указывает, что митогенетическое действие УФ-излучения заключается и исчерпывается стимулированием синтеза высших и низших пептидов [Гурвич А. Г., Гурвич А. Д., 1945]. Это заключение сформулировано на основании сопоставления энергетических условий для получения митогенетического эффекта и синтеза пептидов.

В 30-е годы сотрудниками А. Г. Гурвича Г. М. Франком и С. Ф. Родионовым и одновременно В. Раевским [Raiewsky, 1931] в Германии предприняты первые попытки физической регистрации излучения биологических объектов с помощью видоизмененного счетчика Гейгера — Мюллера. В. Раевский оценивал интенсивность излучения корешков лука в области 265 нм приблизительно в 100—200 квантов [Гурвич А. Г., Гурвич А. Д., 1945; Fisher, 1979]. Г. М. Франк и С. Ф. Родионов на аналогичном приборе регистрировали до 10^3 УФ-квантов электромагнитного излучения работающей мышцы. Эти результаты подтверждены и позднее в период бурного развития физических методов измерения [Троицкий и др., 1961; Владимиров и др., 1964; Копев, 1965].

Кроме того, в УФ-диапазоне при некоторых внешних воздействиях, выводящих систему из нормального физиологического состояния (охлаждение, наркоз, центрифугирование, действие постоянного или переменного тока небольшой величины), регистрируется «деградационное» излучение [Гурвич А. Г. и др., 1944], которое имеет выраженную видовую специфичность и неспецифично относительно воздействия [Гурвич А. А., 1965].

Еще в 30-е годы нашего столетия В. Лепешкин [Lepeschkin, 1933] сообщил о том, что им обнаружено очень слабое излучение

в области ультрафиолета, которое он открыл, применяя специальные фотопластины с низким содержанием желатины (пластинки Шумана). Наблюдая засветку и потемнение фотоматериалов, он обнаружил, что отмирание клеток приводит к высвобождению энергии, запасенной в биологических структурах, в виде излучения в ультрафиолетовой области. Это излучение сопровождало процессы гибели клеток и возникало при коагуляции биокolloидов и распаде липопротеидных комплексов протоплазмы.

Умирующие клетки, независимо от причины их гибели, испускают фотоны с более высокой интенсивностью (иногда на несколько порядков), нежели живущие (так называемое «деградационное» излучение). Это явление объясняется [Гурвич А. А., 1968] необратимым разрушением хорошо упорядоченных клеточных состояний. Б. Рут [Ruth, 1979] показал, что испускание фотонов культурами умирающих клеток сначала резко возрастает, затем падает в соответствии с квазиэкспонентой (с медленно возрастающей константой распада) в течение нескольких часов.

В 1954 г. итальянские ученые Л. Коли и Х. Фачини [Colli, Faccini, 1954], применив фотоэлектронные установки, открыли, что растущие корепки злаковых излучают в видимой области спектра сверхслабый световой поток, названный ими сверхслабой биохемилюминесценцией, которая в отличие от экзотической биохемилюминесценции не может быть замечена в обычных условиях невооруженным глазом.

Стреллер [Streller, Arnold, 1951] обнаружил, что зеленый лист, помещенный под фотокатод фотоэлектронного умножителя, слабо светится в течение длительного времени. Этот феномен Стреллер относил к реакции типа обратного фотосинтеза; его можно считать индуцированной биохемилюминесценцией. Фотосинтетическая биохемилюминесценция [Журавлев, 1965] возникает за счет энергии реакций между фотопродуктами, образовавшимися в процессе освещения, т. е. обратных фотохимических реакций [Владимиров, 1965]. Подобные реакции обнаружены в активной суспензии дрожжей при ее освещении длинноволновым ультрафиолетом и видимым светом [Владимиров и др., 1962]. Другой пример индуцированной биохемилюминесценции — биотермохемилюминесценция, открытая в 1957 г. Арнольдом и Шервудом и регистрируемая после прекращения фотосинтетической биохемилюминесценции при нагревании исследуемого образца [Тарусов и др., 1967]. Кроме того, биохемилюминесценцию можно индуцировать различными химическими агентами (щелочью, адреналином), а также радиационными воздействиями [Казначеев и др., 1965]. Следует отметить, что индуцированные сверхслабые свечения имеют значительно более высокую интенсивность, чем спонтанные.

В настоящее время проводится большое число работ, посвященных изучению биохемилюминесценции и ее механизмов. Значительный вклад в решение этих вопросов принадлежит советской

биофизической школе. Достаточно отметить, что проблемы биохемилюминесценции являются основными направлениями работы крупных биофизических лабораторий [Г. М. Франка], [Б. Н. Тарусова], В. А. Владимирова, И. И. Гительзона, А. И. Журавлева, С. В. Конева и др. Благодаря исследованиям советских ученых показано, что биохемилюминесценция — неотъемлемое качество живой клетки самых различных тканей животных и растительных организмов. По спектральному составу это излучение относится к видимому световому диапазону и обусловлено вкладом возбужденных состояний молекул с разрешенными излучательными переходами, возникающим в ходе химических реакций в клетке. Обнаружено, что биохемилюминесценция обуславливается в основном реакциями неферментативного окисления, в связи с чем это явление кислородозависимо. В процессе эволюции возникли механизмы, регулирующие выраженность окислительных реакций, а следовательно, и биохемилюминесценцию. В основе этих механизмов лежит система антиоксидантов [Журавлев, 1965]. Эти исследования расширены советскими учеными В. А. Веселовским, Е. Н. Секамовой, Б. Н. Тарусовым (1963), Р. Н. Гасановым, Т. Р. Мамедовым (1963) и др.

В 1961 г. Б. Н. Тарусов, А. Н. Поливода, А. И. Журавлев (1961а, б) обнаружили, что печень и мышцы живых мышей испускают сверхслабый световой поток в видимой части спектра. Это излучение происходило спонтанно с поверхности органа в темноте, без каких-либо воздействий на животное. Показано, что в видимой области спектра светят не только ткани животных, но и гомогенаты этих тканей, а также желток куриного яйца.

Наибольшая интенсивность излучения после фракционирования на ультрацентрифуге обладает верхний более богатый липидами слой гомогената. Это, а также отсутствие свечения у белка яйца, бедного липидами, послужило основой для предположения, что возможным субстратом свечения тканей млекопитающих являются липиды.

Наибольшая интенсивность свечения в видимой области в отличие от митогенетического излучения обнаружена у липидов на первых этапах их автоокисления (свободные и связанные липиды печени, олеиновая кислота, оливковое и подсолнечное масло). Ю. А. Владимиров, О. Ф. Львова (1964) сообщили об обнаружении ими свечения митохондрий. Наиболее интенсивное свечение наблюдали в условиях, оптимальных для окислительного фосфорилирования. В 1968 г. Ю. А. Владимиров и сотрудники сообщили о том, что существует цепь фермент-независимых окислительных реакций в митохондриях, сопровождающаяся слабым свечением.

Хемилюминесценция наблюдается при протекании большинства экзотермических реакций, однако существует мнение, что лучистая энергия может выделяться (с большей или меньшей вероятностью) в зависимости от вероятности образования соответ-

ствующих свободных радикалов во всех экзотермических реакциях [Владимиров, 1966].

Впервые идея о том, что свободные радикалы ответственны за излучения биологических объектов, высказана Франкенбургером [Frankenburger, 1933] для объяснения того, что митогенетическое излучение со средней энергией фотонов в 100 ккал/моль обнаруживалось при протекании процессов с валовым тепловым эффектом всего в несколько ккал/моль. Гипотеза Франкенбургера допускала появление свободных радикалов в очень незначительных количествах параллельно протеканию ферментативных реакций, не влияющих на их общий энергетический баланс, и поглощение энергии их рекомбинации молекулами субстрата с последующим высвечиванием.

Поглощение молекулой 2—9 эВ (46,2—207,4 ккал/моль), как правило, переводит валентные электроны на более высокие энергетические уровни и возбуждает молекулы [Журавлев и др., 1965]. Возбужденная молекула может либо диссоциировать, либо вернуться в исходное состояние. При возвращении в исходное состояние энергия возбуждения освобождается в виде излучения или диссипатирует в тепло. От природы субстрата, по всей видимости, зависит спектральный состав излучения. В УФ-диапазоне излучают макромолекулы (белки, нуклеиновые кислоты) [Гурвич А. А., 1968]. С. В. Колев (1965) считает, что не последняя роль в образовании спектров биохемилюминесценции принадлежит белкам, а точнее триплетным возбужденным состояниям триптофана. Хемилюминесценция липидов, жирных кислот, биополимеров, водных растворов, углеводов [Журавлев, Симонов, 1965; Баренбойм и др., 1966; Тарусов и др., 1971; и др.] наблюдается в основном в видимом диапазоне электромагнитного спектра.

Механизмы процессов, приводящих к высвечиванию фотона, по-видимому, в разных случаях своеобразны и в настоящее время еще мало изучены. Однако есть основания предполагать [Владимиров, 1965], что высвечивание при темновых процессах имеет общую природу со свечением, возникающим при обратных фотохимических реакциях, т. е. связано с окислением сильно восстановленных продуктов с последующим разложением перекиси. Запасание энергии, предшествующее высвечиванию кванта, происходит в результате окисления вещества неизвестной природы молекулярным кислородом, а высвобождение энергии, сопровождающееся свечением, осуществляется в процессе разложения окисленного продукта. В этом отношении механизм свечения аналогичен свечению при переходах в случае фотохемилюминесценции. Накоплению перекисей в живом организме препятствуют энергетические и пространственные барьеры, но когда эти соединения все же образуются за счет «короткого замыкания» цепи окислительных реакций, происходит их разложение, сопровождаемое свечением [Владимиров, 1965; Владимирова и др., 1973].

Проведены обширные исследования хемилюминесценции при жидкофазном окислении углеводов и их производных [Васильев, 1963; Аллабутаев и др., 1965]. Это окисление представляет цепную радикальную реакцию; цепь ведут углеводородный и перекисный радикалы. Механизм образования гидроперекиси состоит из процессов инициирования цепей (появление радикалов), и обрыв их происходит с образованием углеводов, перекисей, спиртов, карбоильных соединений и кислорода. Доказано, что возбуждение свечения происходит в экзотермических процессах за счет энергии, высвобождающейся при рекомбинации (или диспропорционирования) радикалов, а интенсивность свечения пропорциональна скорости рекомбинации или в стационарном режиме — скорости инициирования. В реакциях окисления углеводов, иницированных различными веществами, свечение занимает практически одну и ту же область (400—500 нм). Спектр представляет собой широкую бесструктурную полосу с пологим максимумом при 420—450 нм.

Исследования показали [Тарусов и др., 1961а, б, 1965, 1978; Баренбойм и др., 1966], что свободные и связанные липиды печени, мозга, селезенки, а также олеиновая кислота, оливковое и подсолнечное масло люминесцируют в сине-зеленой и красной областях спектра. Интенсивность этой хемилюминесценции в сине-зеленой области для всех липидов приблизительно одинакова и на порядок превышает интенсивность биохемилюминесценции тканей и их гомогенатов. Максимум излучения олеиновой кислоты и оливкового масла лежит в синей области, а у большинства нативных липидов различных органов — в зеленой и красной областях. Люминесцирующая система липидов состоит по крайней мере из трех компонентов [Журавлев, 1965]:

- 1) субстрата (ненасыщенные жирные кислоты и их триглицериды), цепное окисление которого непрерывно поставляет пероксид-радикалы, рекомбинация которых и приводит к хемилюминесценции, главным образом в сине-зеленой области спектра;

- 2) веществ (люминесцирующих добавок), подобно эргостерину, усиливающих хемилюминесценцию, не влияющих на реакцию. Наличие подобных веществ является одним из факторов, определяющих «вспышку» при добавлении нативных липидов к окисляющимся жирам и жирным кислотам;

- 3) биоантиоксидантов, защищающих основной субстрат от быстрого цепного автоокисления. Их можно разделить на две группы: а) ингибиторы типа α -нафтола, β -иопола, антиокислительное действие которых сопровождается ослаблением хемилюминесценции. Очевидно, они сами, продукты их окисления, радикалы и продукты рекомбинации их радикалов не способны к люминесценции; б) антиоксиданты типа адреналина, лецитина, аминагиолов, увеличивающих интенсивность хемилюминесценции при их добавлении к олеиновой кислоте; наличие в тканевых липидах соединений с подобными свойствами также является одним из фак-

торов, вызывающих вспышку при их добавлении к окисленным жирам.

Считается [Тарусов, 1965], что механизм хемилюминесценции липидов в общем идентичен механизму хемилюминесценции углеводородов: цепная реакция автоокисления непрерывно поставляет пероксирадикалы; часть пероксирадикалов неизбежно рекомбинирует с образованием возбужденных продуктов и их последующей хемилюминесценцией.

Процесс такого типа происходит, очевидно, в жирных кислотах и жирах, бедных биоантиоксидантами, пигментами и люминесцирующими веществами.

В вакууме образование пероксирадикалов прекращается и хемилюминесценция затухает.

Добавление в систему перекиси, легко диссоциирующей на радикалы, приводит к вырожденному разветвлению цепей, увеличению количества активных центров, актов их рекомбинации с возбуждением и последующей хемилюминесценцией продуктов.

Радикальные ингибиторы (β -нопол, α -нафтол) эффективно тормозят реакцию. Они снижают концентрацию радикалов и интенсивность хемилюминесценции в спектральной области, соответствующей энергии возбуждения продуктов данной реакции. Образуются радикалы ингибиторов, уже не способные продолжать цепь, они выходят из реакции, давая малоактивные радикалы. Некоторые реакции, рекомбинации ингибиторов, вероятно, сопровождаются смещением максимума излучения в длинноволновую область.

Большинство исследователей сходятся во мнении, что сверхслабое сине-зеленое излучение дает возможность оценить протекающие в живой клетке прижизненные окислительно-восстановительные процессы [Журавлев, 1965], определить баланс промежуточных и конечных продуктов реакций [Тарусов, 1969].

Имеются данные о регистрации спонтанного сверхслабого свечения биосистемы в ИК-области электромагнитного спектра. Американские ученые Фросер и Фрей [Fraser, Fray, 1968] изучали излучение перла голубого краба (в области спектра $0,3 + 10$ мкм). Результаты дали основание предположить, что свечение в этой области спектра может характеризовать физиологическое состояние структуры, так как получено, что интенсивность регистрируемого свечения отличается от расчетного теплового излучения черного тела. Исходя из энергетических предположений, можно считать, что за свечение в ИК-диапазоне ответственны процессы, протекающие на супрамолекулярном уровне. Н. Винер (1968), основываясь на теоретических предположениях, считает, что при некоторых обстоятельствах специфические вещества вирусов (или канцерогенных агентов) излучают инфракрасные колебания, которые обладают способностью содействовать формированию других молекул вируса «из магмы аминокислот и нуклеиновых кислот».

Таким образом, феномен сверхслабого излучения фотонов живыми системами экспериментально обнаружен у всех исследованных клеток растений и животных, за исключением некоторых водорослей, бактерий и простейших. Спектральный диапазон излучения широк — от ультрафиолетовой области до инфракрасной. Биологическое значение излучения трактовалось по-разному, тем не менее накапливается все больше фактов, дающих основание считать, что УФ-фотоны играют важную роль в межклеточных взаимодействиях.

Из общих соображений принципиально возможно, что любой из диапазонов электромагнитного спектра сыграл какую-то роль в эволюции живой природы и принимает обязательное участие в процессах жизнедеятельности организмов, такая возможность уже установлена для значительной области спектра от инфракрасного до ультрафиолетового излучения. Есть основание предполагать, что электромагнитные взаимодействия представляют собой один из общих принципов информационных взаимоотношений функционирующих живых систем, отражаясь в проявлениях различных форм жизнедеятельности. Это положение перекликается с предложенной еще А. Г. Гурвичем концепцией биологического поля. По-видимому, митогенетический эффект А. Г. Гурвича представляет собой частный случай более общей закономерности передачи биологической информации с помощью электромагнитных полей (в том числе световыми квантами). Об информационном значении в биологических системах электромагнитных полей в субмиллиметровом и выше диапазонах указывает в своих работах А. С. Пресман (1968, 1976). Можно думать, что в процессе эволюции животного мира электромагнитные поля из неизбежных спутников и свидетелей биохимических процессов в результате естественного отбора превратились в важнейшую информационную систему и обязательный атрибут жизни. Так, например, известно, что в клетке за секунду протекает около 10^9 химических реакций (как сообщает А. С. Пресман). Как же обеспечиваются передача информации и регулирование этих биохимических превращений?

Интересно, что при расчете энергии основного обмена на одну клетку его величина оказывается равной $1,7 \times 10^{-3}$ эрг/с. Если же учесть, что на передачу указанного количества информации не может быть затрачено более $1,7 \times 10^{-3}$ эрг/с, то весьма реальным капалом связи в клетке, обеспечивающим обозначенную потребность, следует признать потоки световых квантов.

По нашим подсчетам [Казначеев и др., 1964], только в ультрафиолетовой области может быть передано количество информации, равное 10^{20} бит/с/В, информационная цепь одного УФ-кванта оказывается равной 50 бит, что соответствует данным Д. С. Лебедева и Л. К. Левитиной (1964). На основании проведенных расчетов выясняется, что при затрате энергии $1,7 \times 10^{-3}$ эрг/с основной обмен клетки в световом УФ-канале можно передать информации не бо-

лее 5×10^9 бит/с. Удивительно, что это число примерно равно количеству биохимических реакций, протекающих в клетке за секунду.

Отсюда следует предположить, что клетки располагают идеальным капалом связи, где каждый квант может сочетать в себе значение и сигнала, и донатора энергии.

Давая теоретическое обоснование экспериментальному материалу по митогенетическому излучению, А. Г. Гурвич приходит к необходимости допустить существование высоколабильных неравновесных молекулярных ансамблей, что соответствует концепции Бауэра об «устойчиво неравновесных состояниях» [Бауэр, 1935].

Э. С. Бауэр впервые сделал попытку определить специфику биологических систем. Им сформулирован принцип «устойчивой неравновесности», что позволило ему ввести утверждение о принципе максимума эффекта внешней работы как исторической закономерности, т. е. существовании закона исторического развития биологических систем. Суть его состоит в том, что развитие биологических систем есть результат увеличения эффекта внешней работы системы (воздействия организма на среду) в ответ на полученную из внешней среды единицу энергии. Для этого биологические системы в отличие от неживых должны обладать свойством постоянного поддержания своей структуры вне зависимости от факторов среды. Поскольку эти системы постоянно производят работу и разрушаются, они должны самовосстанавливаться, сохраняя неравновесное состояние по отношению к среде обитания. В этом суть принципов устойчивой неравновесности Бауэра.

Таким образом, эволюция биологических систем идет от состояния равновесия, а неживых, напротив, к состоянию равновесия.

А. Г. Гурвич неоднократно подчеркивал близость своей концепции неравновесности к теории Э. С. Бауэра и указал на его приоритет в обобщении этого понятия, однако в понимании конкретных способов осуществления неравновесности А. Г. Гурвич, анализируя эмпирические факты, значительно уточнил представления Э. С. Бауэра: «Понятие молекулярной упорядоченности означает в нашем смысле всякое пространственное распределение молекул, не вытекающее непосредственно из их химической структуры или состояния равновесия, т. е. химических связей, вальсальных сил и тому подобное. В силу этого молекулярная упорядоченность такого рода неравновесна» (цит. по Гурвич А. А. и др., 1974, с. 9).

Эти упорядоченные молекулярные ансамбли получили название неравновесных молекулярных констелляций (НМК). Неравновесность их характеризуется повышенным энергетическим уровнем, соответствующим энергии, необходимой для поддержания НМК. Следует иметь в виду, что НМК динамична, т. е. происходит непрерывная смена элементов констелляции [Гурвич А. А. и др., 1968].

Э. С. Бауэр считал, что неравновесное состояние осуществляется за счет деформации и поляризации молекул; аналогично по А. Г. Гурвичу, НМК представляет собой целые молекулярные ассоциации протоплазмы. Неравновесность их поддерживается непрерывным притоком энергии метаболизма. Устойчивость же НМК должна определяться фактором, ограничивающим степень свободы неупорядоченного теплового движения молекул. Этим фактором мог быть вектор поля, действие которого распространялось на молекулярный уровень организации [Гурвич А. Г., 1944].

Так возникла теория поля, кратко изложенная в 1944 г. Составить общее представление об основных принципах этой теории можно по изложению, данному А. Г. Гурвичем (1948): «Принимается существование клеточных полей, охарактеризованных следующим образом. С каждой клеткой связано непрерывно существующее собственное поле, источник которого как-то связан с ее ядром. Поле векторного характера, направление векторов от источника (т. е. от центра), причем поле обладает постоянной, специфической для данного вида анизотропией. Будучи приблизительно радиальной структуры, клеточное поле обладает, конечно, декрементом, но предполагается его заметное еще действие и за пределами каждой клетки.

Принимается, таким образом, взаимодействие клеток через посредство их полей. Другими словами, в каждой точке пространства внутри нее или в ближайшем окружении живой системы существует поле, охарактеризованное вектором, являющимся результатом геометрического сложения векторов индивидуальных клеточных полей. Такое синтезированное поле обозначается как «векторное». Этим подчеркивается его меняющийся, по крайней мере в течение индивидуального развития организма, характер, так как моментальное состояние актуального поля есть функция от числа и взаимного расположения входящих в систему клеток, т. е. от переменных величин. Функция поля характеризуется и исчерпывается следующим. При поглощении в поле молекулой избыточной энергии она превращается в кипетическую, причем вектором поля в данной, т. е. занятой молекулой, точке определяется направление, а величиной вектора (интенсивностью поля в данной точке) — величина той слагаемой к неупорядоченному (тепловому) мгновенному движению молекулы, которая дается кинетической энергией. Таким образом, путь, пройденный возбужденной молекулой под влиянием поля, определяется запасом ее избыточной энергии; скорость — интенсивностью поля в данной точке. Так как в близких точках векторы мало отличаются по направлению и интенсивности, соседние молекулы будут прокладывать в поле близкие друг другу по направлению и величине пути, т. е. оставаться в непосредственном соседстве друг с другом. Пребывание молекул в таком пространственном взаимоотношении друг с другом и создает их «неравновесную» констеляцию, так как,

согласно определению, молекула, отдавшая свою избыточную энергию, выходит из сферы действия поля.

Существование каждой конкретной констелляции может быть лишь кратковременным, но статистически на близких промежутках времени, при приблизительно сохранившихся общих условиях, в данном районе будут преобладать констелляции определенного типа, эволюционирующего по мере изменения актуального поля в данном районе» [Гурвич А. Г., Гурвич Л. Д., 1948, с. 99].

Вводя понятие «биологического поля», А. Г. Гурвич не намеревался вносить в него какие-либо физические представления. Им была создана концепция, в которой поведение однородных элементов всех морфогенетических процессов регулировалось «единым фактором — преформированной морфой или полем». Исследователь считал, что морфа или поле вносит порядок в поведение элементов, определяющих формообразование. Поле — чисто геометрическое понятие. Форма предшествует физико-химическим процессам, предопределяет их.

Представления А. Г. Гурвича, выдвинутые почти полвека назад, вряд ли могут быть сейчас полностью приняты. Однако многие биологи [Уоддингтон, 1954; Вейс, 1961], рассматривая проблемы теоретической биологии, возвращаются к старым концепциям, обнаруживая в них новые, перспективные аспекты. Идея о «биологическом поле» неоднократно обсуждалась в различных вариациях. В теории поля Н. К. Кольцова, созданной более 40 лет назад, говорится о том, что «поле представляет силовое поле, в разных пунктах которого поддерживается та или иная, меняющаяся в течение развития разница потенциалов. Потенциалы прежде всего электрические, но могут быть и иные: механические, капиллярные, диффузные, гравитационные, температурные или химические» [Кольцов, 1936, с. 559]. И. А. Аршавский (1947) интерпретирует известную теорию градиентов Чайлда как «язык поля».

Вейсом предложена «теория ориентирующей роли субстрата» [Weiss, 1963]. По мнению В. А. Эпгельгардта, силы слабого нековалентного взаимодействия в биологических системах образуют специфическое силовое поле, которое можно назвать «интегративным полем». Имеется гипотеза С. Э. Шноля (1967, 1979) о том, что может существовать акустическое или относительно низкочастотное электромагнитное поле как следствие конформационных колебаний макромолекул в клетке. Между осциллирующими структурными колебаниями молекул возможна синхронизация по фазе колебаний за счет электромагнитного или акустического поля. Это, в свою очередь, может объяснить кооперативные переходы клеточных макромолекул и их комплексов. Согласно этим представлениям С. В. Колев, С. Л. Аксенцев и Е. А. Черницкий (1970) развивают гипотезу о генерализованной структурно-биофизической регуляции внутриклеточных процессов.

Можно считать, что многие гипотезы о «биологическом поле», его физической природе весьма односторонни, но они заслужива-

ют внимания, так как могут отражать какие-либо стороны тех или иных биологических явлений [Токин, 1979].

В 1965 г. В. П. Казначеев предположил, что биологическую систему можно представить как неравновесную фотонную констелляцию, которая существует за счет постоянного притока энергии извне. Белково-пуклеиновые структуры в клетках сосуществуют в единстве до тех пор, пока их объединяет фотонная констелляция, которая составляет информационно-регулирующую систему клетки с колоссальным запасом надежности. Квантовая информация записана в химических соединениях клетки и извлекается из них в результате биохимических превращений, которые возбуждаются (включаются), в свою очередь, предшествующими потоками информации. Последние существуют как внутри клетки, так и могут быть подапы в пее извне [Казначеев, 1965]. Посителем информации в биологических системах могут быть кванты электромагнитного поля или биофотоны. Исследования, проводившиеся на основании этого предположения, свидетельствуют об универсальном характере информационной связи и широком использовании электромагнитного капала в живой природе [Казначеев, Михайлова и др., 1965, 1966, 1969, 1978, 1979].

В последние десятилетия как в СССР, так и за рубежом стали развиваться такие различные, но тесно связанные представления, как биофотохимия, митогенетическое излучение, биохемилюминесценция, электромагнитные межклеточные взаимодействия (коммуникации) и биофотоны. Все эти представления сходятся в одном — они предполагают, что физические и физико-химические механизмы могут быть использованы клетками как средство информационных взаимодействий биосистем.

На основании целого ряда теоретических соображений и экспериментальных доказательств в биологии постулируется существование сопряженных реакций: одновременное осуществление биохемилюминесцентной и биофотохимической реакций. Согласно этой гипотезе, биофотохимическая реакция может быть запущена отдаленным излучением биофотонов. Эти биофотоны могут также использоваться в усилении какой-то биофотохимической реакции. Таким образом, осуществляется коммуникация между клетками за счет связывания биохемилюминесцентной реакции с биофотохимической соответственно гипотезе, которую развивает С. Сунг [Sung, 1979] в течение нескольких лет. Этот феномен он считает механизмом клеточной коммуникации.

В то же время Ф. Поппом [Popp, 1979] и его школой развивается биофотоповая концепция; им отмечается, что излучение может быть использовано в живой системе для межклеточной связи и возможно для передачи генетической информации, так как клетки в основном испускают фотоны до митоза и испускают вторичное излучение, происходящее с групповой скоростью 10 м/с. Пролиферирующие клеточные культуры излучают интенсивнее, чем культуры, у которых прекратился рост.

Эти и другие экспериментальные факты привел Ф. Поппа к постулату, что биологические системы обладают способностью запасать и перерабатывать когерентные фотоны, поступающие из внешнего мира.

Сверхслабые излучения биологических объектов можно рассматривать как испускание фотонов, которые биологическая система получила (неважно каким образом) из внешней среды. Это относится как к хемилюминесценции, так и биохемилюминесценции, так как с физической точки зрения эти процессы можно рассматривать как процессы, за счет которых реальные фотоны накапливаются и вновь испускаются во время образования специфических структур и которые зависят от химических реакций.

Фотоны взаимодействуют с молекулами таким образом, что возбужденные электронные состояния молекул окажутся занятыми. Это может так влиять на химическую реактивность, что скорость реакции достигает значительных величин по сравнению с условиями теплового равновесия, которые возрастают параллельно с энергией активации. Например, в ультрафиолетовой области электромагнитного спектра скорость реакции может возрастать примерно в 10^{10} раз [Popp, 1979]. Этот факт позволяет предполагать, что сверхслабое излучение биофотонов способно регулировать обмен клетки в целом. Биологические системы способны обнаруживать оптимальную реакцию на внешние влияния: усиление, ослабление и хранение когерентных электромагнитных сигналов и обладают полной прозрачностью для стохастических влияний. Клеточная популяция функционирует как машина, способная излучать и поглощать фотоны; она представляет собой открытую систему и включает в себя фотоны как внешнего излучения, как и «виртуальные» фотоны, получаемые ею в процессе питания, и фактически испускает фотоны. Такую машину можно описать с помощью фотохимического потенциала, который равен энергии, мобилизованной из «машины» при захвате фотона.

Исходя из этих предпосылок, Ф. Попп рассматривает регуляцию пролиферации как управление посредством фотохимического потенциала. Исходя из термодинамического анализа описанной модели биологической системы, Ф. Попп, с одной стороны, приходит к заключению, что репликацией и транскрипцией ДНК управляют четкие взаимодействия в фотонном поле. С другой стороны, предполагается [Popp, Ruth, 1977], что биологические системы могут быть представлены как система связанных нелинейных осцилляторов с малым декрементом затухания. Эта система характеризуется минимизацией энтропии, исключительно высокой поляризацией и проводимостью (речь идет о резонансе), крайне эффективной трансформацией и утилизацией энергии и последней, но не менее важной, ее способностью хранить информацию в течение продолжительного времени.

Теоретический анализ модели биосистемы с термодинамической и электродинамической точки зрения дает основание предпо-

лагать, что самой существенной молекулой для хранения фотонов может служить ДНК. В качестве подтверждения правдоподобности своей гипотезы Ф. Попп ссылается на работы М. Ротмейера [Rottmeyer, 1978] и Б. Рутта [Ruth, 1979], дающие экспериментальные результаты, хорошо согласующиеся с теоретическими расчетами, сделанными на основании описанных моделей.

В свете биофотоновой концепции Ф. Попп рассматривает некоторые спектры эволюции, проводя квантовомеханический анализ своей модели. На основании теоретических рассуждений, математических выкладок, частично подтвержденных специальными экспериментами, Ф. Попп считает, что биологические системы можно понять через их когерентные состояния, которые пригодны для резонансов внешнего мира, обнаруживаемых во всей спектральной области. Это означает, что спектр собственной частоты систем, которым благоприятствует эволюция, развивается от коротковолновой части спектра (элементарные частицы, атомы, молекулы) до УФ, видимой, инфракрасной (клетки) до области в несколько герц (ЭЭГ) (для живых систем) и ниже (для экологических структур живых систем), всегда включая при этом резонансы внешней среды (космические излучения, излучения Земли, Солнца и т. д.).

Таким образом, с позиций своей концепции Ф. Попп говорит о возможности постулирования закономерности сохранения информации. При этом следует учитывать превращение «свободной», «коммуникативной» информации в структуры (т. е. «связанную» информацию), причем «биологическое состояние клетки может полностью управляться полем фотонов в популяции» [Попп, 1979, с. 137].

В течение нескольких лет нами [Казначеев, Михайлова, Шурин, 1966, 1969; Казначеев и др., 1964—1969, 1971, 1973, 1977—1979] исследуется феномен дистантных межклеточных информационно-взаимодействий, обусловленных электромагнитным излучением. Речь идет о возможной передаче биологической информации с помощью электромагнитных квантов. В результате проведения десятков тысяч опытов экспериментально установлено неизвестное ранее явление дистантных межклеточных электромагнитных взаимодействий между двумя культурами ткаши при воздействии на одну из них факторов биологической, химической или физической природы с характерной реакцией другой (интактной) культуры в виде „зеркального“ цитопатического эффекта, что определяет клеточную систему как детектор модуляционных особенностей электромагнитных излучений» [Казначеев и др., 1973, с. 3].

Предпосылка экспериментов заключалась в том, что функциональное состояние клетки, подвергнутой воздействию различных факторов внешней среды, кодируется в электромагнитном излучении, возникающем в процессе ее жизнедеятельности. Предполагалось проверить, обладает ли это излучение сигнальной функ-

цией, способно ли оно запускать адекватные исходному возбуждению состоянию процесса в интактных клетках-детекторах. Поскольку имелось в виду исследование информативных свойств излучения, избраны такие ситуации, когда клетка сталкивалась с повреждающими факторами среды. В этом случае адекватный ответ со стороны клеток-детекторов мог быть истолкован однозначно как проявление информативного воздействия. В качестве факторов воздействия на клетку использовались ДНК- и РНК-содержащие вирусы, токсические дозы двухлористой ртути, летальная доза ультрафиолетового облучения и др. В результате в клетках развиваются повреждения, приводящие к гибели со специфической для каждого из перечисленных агентов картиной. Если поврежденные соответствующим образом клетки, находящиеся в специальных камерах с кварцевыми окошками, соединить с помощью оптического контакта с такими же клетками, не подвергнутыми никакому воздействию, то в последних закономерно развиваются характерные изменения, повторяющие картину «болезни» и гибели поврежденных клеток. Таким образом, между двумя группами клеток, имеющих только оптический контакт через кварцевую пластинку, обнаружены дистантные межклеточные взаимодействия, обусловленные сверхслабым электромагнитным излучением.

В настоящее время в Советском Союзе и за рубежом появились исследования, подтверждающие полученные нами факты [Алтынков, 1972; Мостовников, Хохлов, 1977]. Кроме того, появились работы по электромагнитной биоинформации [Electromagnetic Bio-Information, 1979]. В последующих главах нами описаны условия постановки эксперимента и полученные данные, подтверждающие, на наш взгляд, информационную роль собственных электромагнитных излучений клетки.

Глава II

МЕТОДЫ И УСЛОВИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

В наших исследованиях по изучению биологического действия сверхслабого электромагнитного излучения клеток использован метод биологического детектирования, идея которого предложена в свое время А. Г. Гурвичем (1945). Наиболее чувствительным детектором слабых излучений, судя по данным А. Г. Гурвича, являются биологические объекты (клетка). Поскольку нас интересовал вопрос, заложена ли сигнальная функция в сверхслабом свечении клеток, необходимо было выбрать такую модель клеточного состояния, которую можно было бы четко учитывать с помощью

биологического детектора. С этих позиций наиболее удобный объект — культура ткани, зараженная различными вирусами, пораженная двуххлористой ртутью (сулемой) или ультрафиолетовой радиацией (т. е. пораженная каким-либо экстремальным агентом). Учет специфического действия вирусов, сулемы и УФ-радиации можно вести по цитопатическому действию (ЦПД) и иммунологическим сдвигам. Исследования планировались таким образом, что культура ткани, зараженная вирусами, пораженная сулемой или УФ-радиацией, была источником специфического сигнала, закодированного в сверхслабом свечении инфицированных клеток. Детектором этого излучения служила интактная культура ткани (не пораженная экстремальным агентом). Культура-детектор и пораженная культура полностью разобщались в специальных изолированных камерах с автономной для каждой системы клеток питательной средой. Сохранялся только оптический контакт через кварцевые или обычные стекла-подложки, на которых в камерах росли клетки культуры ткани (фото 1, 2)¹. В клетках интактной культуры (в дальнейшем обозначаемой как «зеркальная» культура ткани), имеющей оптический контакт с пораженной тканью, развивались все морфологические признаки экстремального состояния, специфически присущие соответствующему агенту (в дальнейшем они обозначаются как «зеркальный» цитопатический эффект — ЦПЭ).

ВЫБОР КАМЕР

По условиям опыта требовалось вырастить ткань одновременно в нескольких камерах, которые затем соединить попарно дно с дном (см. фото 2). Кроме того, чтобы избежать высыхания и голодания ткани, камеры необходимо было поместить во вращающийся барабан (рис. 1, 2). Культура ткани, служившая объектом исследования, выращивалась в специальных камерах (см. рис. 1), которые представляют собой шарообразный сосуд диаметром 50 мм с патрубком для заливки питательной среды и клеточной взвеси и круглым отверстием диаметром 10 мм со шлифованными краями в дне камеры. После стерилизации камеры к отверстию в дне с шлифованным краем с помощью индифферентной в биологическом отношении пластической массы герметично припаявалось стекло, слюдяная или кварцевая пластинка (15×15 мм, толщиной от 0,2 до 1,0 мм). Затем в камеру через патрубок вносили клеточную взвесь и питательную среду. Камеру закрывали стерильной пробкой и помещали в термостат (37°C) припаянным вниз стеклом на 2—3 сут до получения культуры ткани в виде монослоя на припаянном стекле. После этого культура считалась готовой к эксперименту. Для получения «зеркального» цитопатического эф-

¹ Фото см. в приложении.

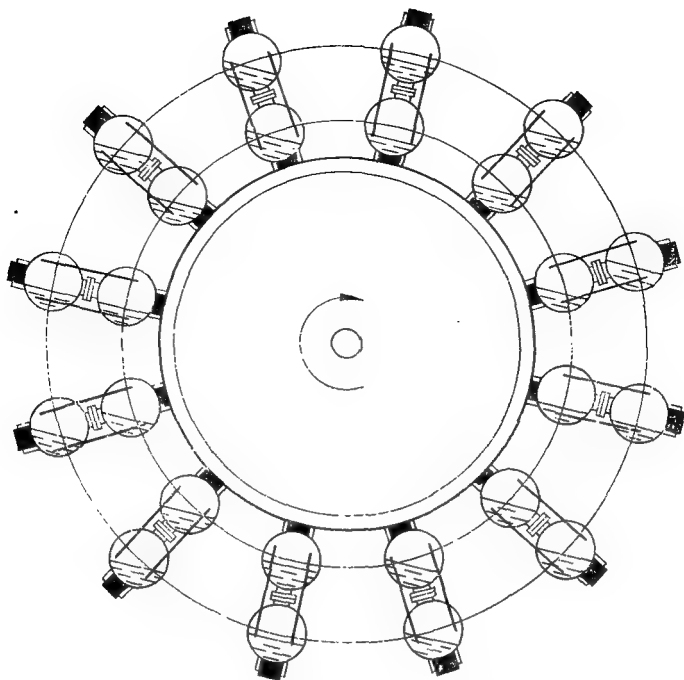


Рис. 1. Схема размещения смонтированных и соединенных попарно камер на вращающемся барабане.

фекта в интактной культуре, отделенной кварцевым стеклом-подложкой от культуры ткани, пораженной экстремальным агентом, использованы три конструкции камер. Ряд опытов проведен с указанными выше шаровидными камерами, но питательной средой заполняли не всю камеру (5 мл), а оставляли около $9/10$ объема под свободное воздушное пространство и в неподвижном состоянии подложками вниз выращивали мопослой клеток. При монтаже камер попарно во избежание высыхания и голодания культуры клеток, размещенной подложкой вверх, их помещали в специальный барабан, где ткань постоянно при медленном вращении омывалась питательной средой, так как положение «верх — низ» менялось дважды за полный оборот барабана. Продольная ось смонтированной пары камер располагалась перпендикулярно оси барабана. В одну из камер вносился экстремальный агент (вирус, сулема, УФ-облучение). Проведена серия экспериментов, позволившая установить, что при применении камер описанной конструкции, помещенных во вращающийся барабан, «зеркальный» цитопатический эффект наблюдается в 73—78%.

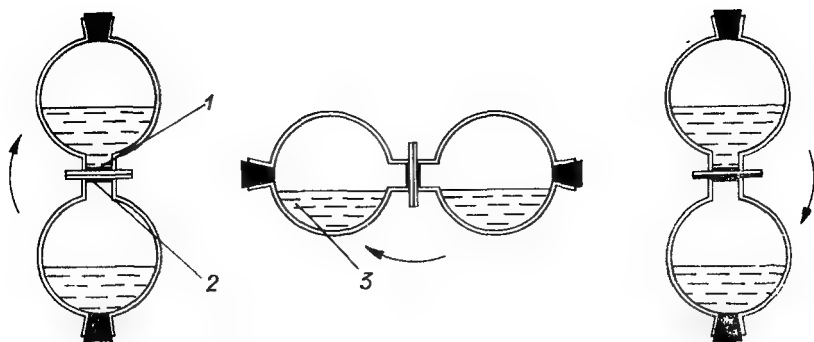


Рис. 2. Схема перемещения положений смонтированных камер во вращающемся барабане.

1 — зона роста культуры в зараженной камере; 2 — зона роста культуры в «зеркальной» камере; 3 — питательная среда.

Кроме того, нас интересовала возможность получения «зеркального» цитопатического действия без помещения камер во вращающийся барабан. Было исследовано несколько типов камер, в которых эффективное выращивание культуры не требовало вращения.

Первая конструкция (фото 3) — камера шарообразная с отведенным сбоку около дна патрубком, к которому припаивалась подложка. В камеру вносили 5 мл питательной среды со взвесью клеток (200—300 тыс. на 1 мл среды). Такая камера не помещалась в барабан для вращения. Над питательной средой оставался слой воздуха. В таких условиях клетки давали хороший рост на подложке, но «зеркальный» цитопатический эффект отсутствовал даже при контактировании в течение 3—4 сут при наличии в культуре ткани, парной камеры, пораженной вирусом или сулемой выраженного цитопатического эффекта (на 4+).

Вторая конструкция — камеры в виде чашек Карреля, наложенных одна на другую, с впаянным кварцевым или стеклянным дном (фото 4). Камеры не вращались. Исследовано 50 пар камер, из них 40 с кварцевым и 10 пар с простым стеклом. Ни в одном случае «зеркальный» цитопатический эффект не наблюдался.

В качестве вращающегося барабана нами использован аппарат для культивирования тканей во вращающихся пробирках. Мотор аппарата был вынесен из термостата, в нем находился лишь барабан с укрепленными на нем камерами. На барабан помещалось одновременно до 56 пар камер.

В вирусологической практике отмечено, что наибольший выход вируса в клеточной культуре происходит при росте ткани не в покое, а при медленном ее вращении, когда для клеток происходит постоянная смена питательной среды — кислорода. Пам

необходимо было установить, при какой скорости вращения барабана можно получить оптимальные условия воспроизведения «зеркального» ЦПЭ. Проведены опыты по определению числа оборотов, оптимального для выращивания культуры — по 50 опытов на каждую скорость вращения (12, 20, 24, 25, 28, 30 об/ч). При вращении барабана со скоростью 12—20 об/ч положительные результаты получены в 17 случаях. Наилучшие результаты наблюдали при вращении барабана со скоростью 24—25 об/ч. В этом случае «зеркальный» ЦПЭ получен в 40 опытах из 50. В контрольных, незараженных вирусом культурах, подвергавшихся такому же вращению, неспецифической дегенерации не наблюдалось (табл. 1). При вращении барабана со скоростью 30 об/ч мы наблюдали неспецифическую дегенерацию клеток как в незараженных (контрольных), так и в зараженных вирусом камерах.

Таким образом, оптимальным условием культивирования клеток вне организма и воспроизведения «зеркального» ЦПЭ было вращение камер в барабане со скоростью 24—25 об/ч. При такой скорости вращения клетки в колбах равномерно смываются средой без гидродинамического воздействия, не подсыхают, на достаточное время соприкасаются с газовой фазой среды культивации, своевременно смываются с поверхности монослоя продукты метаболизма, тормозящие рост и деление клеток. Все эти моменты отражены в известных руководствах по культивированию клеток вне организма.

ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ ТКАНИ И ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

Для проведения эксперимента использовали как первичную, так и перевиваемую гомологичную культуру. Экспериментировали на первичной культуре фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ) и фибробластов куриного эмбриона (КЭ), выращенных из трипсицизированной кожно-мышечной ткани; использовали первично трипсицизированную культуру клеток глаза эмбриона человека (ГЭЧ). Кроме того, использовали следующие перевиваемые клеточные линии: *Her-2* — перевиваемые эпителиальные клетки карциномы гортани человека; *Hela* — перевиваемая культура кле-

Т а б л и ц а 1

Скорость вращения барабана, об/ч	Число пар камер		
	всего	с положительным «зеркальным» ЦПЭ	без «зеркального» ЦПЭ
12	50	15	45
20	50	22	28
24—25	50	40	10
28	50	12	20
Неспецифическая дегенерация в 18 парах камер			
30	50	1	50
Неспецифическая дегенерация			

ток рака шейки матки человека; ПАО — перевиваемая линия клеток паховой железы обезьяны; СПЭВ — перевиваемый почечный эпителий эмбриона свиньи; МК — перевиваемая линия клеток почки обезьяны; *L* — перевиваемая культура мышинных фибробластов; *Fl* — перевиваемая линия эпителия амниона человека; *РП* — перевиваемая линия клеток почки эмбриона человека; АМН — перевиваемая линия амниона человека.

Культивировали клетки на среде 199 Паркера с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков.

ПОДЛОЖКИ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ В КАМЕРАХ

Проведена серия экспериментов по влиянию толщины и качества подложки, на которой выращивался монослой тканевой культуры, на условия получения «зеркального» ЦПД.

В качестве подложки для клеток применялись стекла толщиной 0,2; 0,4; 0,6; 1,0 мм, а также кварцевые и слюдяные пластинки толщиной 0,2; 0,4; 0,6; 1,0 мм. Пропускная способность квар-

Таблица 2

Влияние толщины подложки на «зеркальный» ЦПЭ в контактной культуре

Клеточная культура	Экстремальный агент	Число опытов	Толщина подложки, мм			
			0,2	0,4	0,6	1,0
Кварцевая подложка						
ФЭЧ	Вирус Коксаки А-13	25	22/3	18/7	17/8	0/25
КЭ	FPV	25	18/7	18/7	17/8	0/25
МК	Ad-5	25	16/9	17/8	13/12	0/25
ФЭЧ	Сулемеа	25	20/5	20/5	18/7	0/25
Слюдяная подложка						
ФЭЧ	Вирус Коксаки А-13	25	22/3	16/9	18/7	0/25
Пер-2	Ad-5	25	21/4	20/5	12/13	0/25
ФЭЧ	УФ-радиация	50	46/4	36/34	30/20	0/50
Стеклоянная подложка						
ФЭЧ	Вирус Коксаки А-13	25	0/25	0/25	0/25	0/25
КЭ	FPV	25	0/25	0/25	0/25	0/25
МК	Ad-5	25	0/25	0/25	0/25	0/25
ФЭЧ	Сулемеа	25	0/25	0/25	0/25	0/25

Примечание. В числителе — число положительных опытов, в знаменателе — число отрицательных опытов.

цевых пластинок в области 220—360 нм равнялось 70—90 %, а слюды — 80—95 %. Для простых стекол область пропускания находилась в видимой части спектра, начиная с 380—440 нм.

Припаивалось стекло термопластической массой В-12. В этих опытах получены следующие результаты: при толщине кварцевого стекла 0,2; 0,4 и 0,6 мм со всеми экстремальными агентами в 17—20 случаях из 25 на каждый экстремальный агент наблюдался «зеркальный» ЦПЭ. При использовании кварцевой или слюдяной подложки толщиной 1,0 мм «зеркальный» ЦПЭ не наблюдался (табл. 2). При постановке опыта с простым стеклом любой толщины в качестве подложки «зеркальный» ЦПЭ в интактной культуре не получен ни разу, ни с одним из экстремальных агентов (см. табл. 2).

Таким образом, толщина кварцевой или слюдяной подложки от 0,2 до 0,6 мм позволила получить «зеркальный» ЦПЭ в интактной культуре в парных камерах. При толщине подложки 1,0 мм (для пары камер 2,0 мм) «зеркальный» ЦПЭ исчезал. При использовании стеклянных подложек любой толщины он не проявлялся (см. табл. 2).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПОЗИЦИИ КОНТАКТА КАМЕР ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ «ЗЕРКАЛЬНОГО» ЦПЭ

Для определения минимальной эффективной экспозиции контактирования зараженных и незараженных клеточных культур в парных камерах, необходимой для проявления «зеркального» ЦПЭ, стыкованные камеры с пораженной и непораженной клеточной культурой разъединяли через определенные промежутки времени (2, 4, 6, 12, 24, 48 ч) с дальнейшим наблюдением за морфологическими характеристиками культуры тканей в «зеркальных» камерах.

Исследовано по 50 пар камер каждой экспозиции при воздействии различных экстремальных агентов. Эксперимент проводился одновременно с двумя парами камер, время экспозиции которых было одинаково, так же как и все прочие условия.

Одну пару камер разъединяли через 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48 ч контакта, затем зараженную «зеркальную» и клеточные культуры помещали отдельно в разные термостаты. Демонтирование камер, фиксирование, окраску и морфологические исследования стекол проводили через 18, 24, 48 ч раздельного культивирования. Оказалось, что минимальное время контакта, необходимое для появления «зеркального» ЦПЭ, равно 4 ч для вируса *FPV* и 6 ч для аденовируса, вируса Коксаки А-13 и сулемы. Более короткая экспозиция четкого эффекта не дает. «Зеркальный» эффект при 4—6-часовой экспозиции проявляется лишь через 18—20 ч раздельного культивирования (табл. 3).

Влияние экспозиции контактирования камер на проявление «зеркального» ЦПЭ в интактной клеточной культуре

Клеточная культура	Экстремальный агент	Время экспозиции, ч						
		2	4	6	8	12	24	48
ФЭЧ	Вирус Коксаки А-13	—	—	+	+	+	+	+
КЭ	FPV	—	+	+	+	+	+	+
МК	Ad-5	—	—	+	+	+	+	+
ФЭЧ	Сулемеа	—	—	+	+	+	+	+

Примечание. Во всех сериях экспериментов по 50 пар камер.

Вторую пару демонтировали после окончания оптимального времени экспозиции (48 ч). Подложки фиксировали, красили гематоксилин-эозином для морфологического исследования. Культуральную жидкость отбирали для выявления вируса при пассаже на культуре ткани как из зараженной, так и «зеркальной» камеры. При контакте камер в течение 48 ч «зеркальный» ЦПЭ проявлялся в 35—40 парах камер из 50.

* * *

В процессе работы выяснилось, что получение положительного «зеркального» эффекта зависит от некоторых дополнительных условий. Так, от начала до конца опытов в термостате выдерживается полная темнота: открывание термостата во время опыта, а следовательно засвечивание культур рассеянным неярким светом, резко снижает или полностью уничтожает положительный «зеркальный» ЦПЭ. Для выяснения возможной причины указанного явления засвечивания зараженные и незараженные культуры исследованы на специальной квантометрической установке высокой чувствительности (с помощью ФЭУ-42). В опытах с предварительным освещением тканевых культур дневным светом установлено наличие длительного (1,5—2 ч) вторичного свечения. По-видимому, этот эффект является одной из причин отсутствия «зеркального» эффекта в опытах с засвеченными камерами: появление дополнительных «световых» шумов гасит эффект взаимодействия в системе клетка — клетка.

ОБЩАЯ СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТА

Опыт проводился в парных камерах. После того, как на подложке образовывался монослой клеток, в одну камеру вносился какой-нибудь из указанных выше экстремальных агентов, другая оставалась нетронутой. Затем камеры с внесенным повреждающим

фактором монтировались попарно с интактными камерами допьями-подложками (см. рис. 2) и закреплялись на барабане перпендикулярно оси (см. рис. 5). Барабан находился внутри затемненного термостата ($t = 37^{\circ}\text{C}$) и вращался вместе с камерами со скоростью 25 об/ч. Таким образом, в каждый определенный момент времени клетки в обеих камерах равномерно омывались питательной средой, а следовательно, не подсыхали и не голодали (см. рис. 3, 4).

Оптимальность условий культивирования клеток проверялась по интактной ткани в аналогичных камерах без обработки, кроме попарного монтирования. Такой контроль на выявление спонтанной дегенерации клеток культуры ткани постоянно сопровождал все опыты. Спонтанная дегенерация не наблюдалась.

Через несколько суток камеры извлекались, демонтировались, стекла-подложки с выросшими на них клетками отпаивались и после фиксации и окрашивания проводили морфологическое исследование культуры. Препараты фиксировали метиловым спиртом или 10%-ным формалином, окрашивали по Романовскому, по Брассе гематоксилин-эозином.

Учет цитопатического эффекта вели по отношению числа погибших клеток к числу всех клеток и по типу морфологических изменений. Слабоположительный цитопатический эффект оценивали отношением 1 : 10, средний — 1 : 2, выраженный — 2 : 3—1 : 1.

В качестве экстремального агента в работе использовали три различных вида вируса: Коксаки А-13 (штамм 401 и 639), вирус классической чумы птиц и аденовирус (штамм 5); химический клеточный яд — двухлористую ртуть (сулему) и ультрафиолетовую радиацию (экспозиция 40—45 с, лампа БУВ-30, расстояние 0,5 м), т. е. исследовалась зависимость проявления дистантных межклеточных взаимодействий при воздействии на клеточную культуру факторами биологической и физической природы.

Г л а в а III

ДИСТАНТНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ В СИСТЕМЕ ДВУХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ПОРАЖЕНИИ ОДНОЙ ИЗ НИХ ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ АГЕНТОМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ, ХИМИЧЕСКОЙ ИЛИ ФИЗИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ

Изучение дистантных межклеточных взаимодействий проводилось на системе двух тканевых культур, размещенных в изолированных камерах таким образом, что между клетками сохранял-

ся лишь оптический контакт через стеклянные, кварцевые или слюдяные подложки. Одна из тканевых культур подвергалась воздействию экстремального агента. Вторая служила детектором цитопатических изменений, возникших в пораженных клетках.

В качестве экстремальных агентов использовались: вирус Коксаки А-13, вирус классической чумы птиц (*FPV*), двухлористая ртуть (сулема), ультрафиолетовая радиация.

Культура ткапи, служившая объектом исследований, выращивалась в специальных камерах на припаянных к шлифу кварцевых, слюдяных или стеклянных подложках различной толщины (от 0,2 до 1,0 мм). Пропускная способность кварцевых и слюдяных пластинок в области 220—360 нм составляет 70—90 %, для стекол в видимой области начиная с 380—400 нм. Применялись первичные культуры фибробластов человеческого и куриного эмбриона, перевиваемая ткань почек обезьяны и др.

После того, как на дне камер образовался монослой, камеры с внесепным повреждающим агентом мопировались попарно с интактными доньями-подложками и закреплялись на вращающемся барабане перпендикулярно оси. Барабан находился внутри затемненного термостата ($t = 37^{\circ}\text{C}$) и вращался вместе с камерами со скоростью 25 об/ч. Таким образом, клетки в обеих камерах равномерно омывались питательной средой, не подсыхали и не голодали. Контроль на выявление спонтанной дегенерации клеток культуры ткапи постоянно сопровождал все опыты. Спонтанная дегенерация не наблюдалась.

Через 2—4 сут камеры извлекали, демонтировали, стекла подложки с выросшими на них клетками отпавляли и после фиксации и окрашивания препараты подвергали морфологическому исследованию.

Учет цитопатического эффекта велся по отношению числа погибших клеток к числу всех клеток и по типу морфологических изменений. Слабоположительный ЦПЭ оценивался отношением 1 : 10, средний — 1 : 5, выраженный — 1 : 2. Всего поставлено около 12 000 экспериментов.

Исследования, проводимые в области электромагнитного излучения биосистем, уже сейчас показывают, что, испускаемое всеми живыми клетками, оно представляет собой источник ценной информации о состоянии клеточных структур.

Однако в литературе почти отсутствуют данные о роли биохемилюминесцентного излучения при вирусной инфекции. Вместе с тем процесс взаимодействия вируса с клеткой и, как следствие этого, репродукция вируса сопровождаются глубокими изменениями клеточного метаболизма, что не может не отразиться на характере химических реакций, ответственных за излучение.

При взаимодействии вирусов с клетками культуры тканей наблюдаются различные изменения, которые обуславливаются рядом факторов, среди них большое значение имеют степень чувствительности клеток культуры к вирусу и условия среды. Встрече-

ча вирусов с восприимчивыми клетками в культуре тканей сопровождается либо латентной инфекцией клеток, либо острой. При острой форме инфекции наблюдаются деструктивные изменения в зараженных клетках, часто приводящие к гибели. Явления, вызывающие нарушения структуры клетки под воздействием вируса, называют цитопатическим действием (эффектом) вируса. Однако ЦПД считают конечным этапом взаимодействия вируса с клеткой [Жданов, 1964]. На ранних этапах этого взаимодействия, а при латентной инфекции — и на более поздних репродукция вируса в зараженных клетках не сопровождается их гибелью. Клетки остаются жизнеспособными и внешне могут не отличаться от контрольных. При более детальном изучении процесса взаимодействия вирусов с клетками культуры тканей установлено, что он является сложным и многоэтапным.

На ранних этапах как при остром, так и латентно протекающем инфекционном процессе воздействие вируса на клетки приводит к изменению некоторых звеньев обмена веществ, которые можно выявить определенными гистохимическими реакциями. Как показывают многие исследователи [Андикапаридзе, Боголюбова, 1962; Жданов и др., 1962; Агост, 1966; Тихоненко, 1966; и др.], вирусы, инфицируя восприимчивую клетку, вызывают нарушения в процессах биосинтеза. Путем биохимических исследований зараженных клеток обнаружено усиление синтеза нуклеиновой кислоты.

К числу ранних проявлений вирусной инфекции клетки может быть отнесено, очевидно, и увеличение размера их ядер. Первым это явление описал Барнет в 1956 г. Увеличение размера ядра, по его представлению, есть результат необычной физиологической активности клетки вследствие проникновения в нее нуклеиновой кислоты вируса. Этот феномен систематически изучался Р. Б. Хесинс с сотрудниками [Хесинс и др., 1959а, б] и назван авторами дезинтегративным набуханием. Оно исследовалось в однослойных культурах клеток, зараженных вирусами полиомелита, осповакцины и др. По мнению Р. Б. Хесинса, в основе дезинтегративного набухания ядер клеток лежит усиление некоторых сторон клеточного метаболизма, наблюдающееся в течение латентного периода взаимодействия вируса и клетки. Эта реакция не зависит от дозы вируса, не связана с величиной вирусных частиц, не является результатом избирательного поражения ядра или цитоплазмы и не зависит от типа клеточной культуры. Все вышесказанное свидетельствует о том, что дезинтегративное набухание ядер является неспецифической реакцией клеток на присутствие вируса в среде и характеризует наиболее ранний период патогенного действия вируса.

Когда начальный этап взаимодействия вируса и клетки, во время которого происходит перестройка ее обмена веществ, заканчивается, наступает второй этап — специфическая реакция клетки на воздействие данного вируса. Она очень многообразна.

Одним из ее проявлений является собственно цитопатический эффект (ЦПЭ) — повреждение клеток под воздействием вируса. Локализация и динамика наблюдаемых при этом патологических изменений чрезвычайно разнообразны, и в этом заключается основа специфичности ЦПЭ. Так, аденовирусы поражают ядра клеток, вирус гриппа вызывает изменения главным образом в цитоплазме, вирусы полиомиелита и энцефалитов примерно в одинаковой степени разрушают ядро и цитоплазму. На втором этапе взаимодействия вируса и клетки одновременно с морфологическими изменениями, а иногда и раньше происходят изменения обмена веществ [Ждапов, 1964, 1966, Агол, 1966].

Характер морфологии ЦПЭ определяется свойствами вируса и клетки. Так, при воздействии вируса полиомиелита на клетки почек обезьяны резкие изменения и гибель клеток наблюдаются уже через 12—18 ч [Ворошилова, 1979]. При воздействии вируса гриппа на эти клетки дегенеративные изменения долгое время отсутствуют, и в цитоплазме появляются включения, в которых концентрируется почти вся РНК клетки [Горбунова, 1960].

Решающее значение на скорость наступления ЦПЭ оказывает с одной стороны, доза вируса. Большая доза обычно вызывает раннее проявление цитопатического действия. Примером могут служить цитопатические действия микровирусов. Средние и малые дозы вируса позже вызывают ЦПЭ, и процесс гибели клетки удлинняется, что позволяет выявить характерные включения в клетках — изменения их обмена веществ. Включения бывают цитоплазматические (вирус полиомиелита и др.) и внутриядерные (аденовирусы), представляющие собой кристаллы вируса. В других случаях внутриклеточные включения представляют собой продукты реакции на вирусную инфекцию. Такими включениями могут быть тельца А при герпесе, дающие отрицательную реакцию на ДНК.

ЦПЭ зависит и от клетки, ее возраста, физиологического состояния. Характер реакции у культур тканей на один и тот же вирус может быть различным: одни культуры обнаруживают пораженную дегенерацию, сопровождающуюся размножением вируса; у других культур не отмечается морфологических изменений, хотя вирус размножается; некоторые культуры совершенно чувствительны к воздействию вируса.

Интересно отметить, что при выработке клетками невосприимчивости к данному вирусу средние размеры ядер не отличаются от размера ядер клеток контрольных восприимчивых культур. К числу ранних ответных реакций зараженных культур относятся также и реакции, выражающиеся в гибели части клеток, вызванной токсическими действиями аденовируса. Было отмечено развитие дегенеративных изменений в культуре эмбриональной ткани человека через 18 ч после введения 10^6 — 10^7 тканевых цитопатических доз (ЦПЭ₅₀) вируса гриппа типа Д [Тарасов, 1958]. Поскольку развитие этих изменений сопровождалось быстрым пе-

нием инфекционного титра вируса при отсутствии нарастания титра гемагглютининов в культуральной жидкости, они были отнесены за счет токсического действия вируса.

Таким образом, ясно, что в клетке, инфицируемой вирусом, происходят одновременно процессы синтеза сложного вещества для построения вирусной частицы и процесса распада клеточных структур с высвобождением продуктов этого распада. Морфологические критерии этих явлений зависят от типа вируса и вида клетки-хозяина, но остаются при этом достаточно специфичными. Четким тестом характера взаимодействия вирулентного вируса с клеткой можно считать ЦПЭ.

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что развитие вируса в клетке сопровождается глубокими сдвигами метаболизма во всех его выражениях.

ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО АГЕНТА ВИРУСА КОКСАКИ А-13

Вирус Коксаки А-13 принадлежит к семейству пикорновирусов. Это небольшие (~ 40 мн) РНК-содержащие вирусы икосаэдрической формы, без оболочек.

Вирусы Коксаки А-13 размножаются в первичных культурах клеток тканей и органов эмбриона человека и приматов, в культурах почечной и амниотической тканей человека.

Цитопатическое действие вируса Коксаки А-13 выражается в дегенерации клеточных культур, завершающейся полной деструкцией клеток с последующим их отслоением и освобождением из них вирусных частиц. На окрашенных препаратах ЦПЭ характеризуется пикнозом ядер, исчезновением ядрышек, появлением в центре клеток РНК-содержащих эозинофильных масс, которые, увеличиваясь в размерах, смещают ядро к периферии клетки.

Биологической особенностью вирусов Коксаки А-13 является способность вызывать у поворожденных мышей вялые параличи, обусловленные распространенным миозитом с острым воспалением и некрозом (типа ценкеровского) скелетных мышц.

Типирование вирусов Коксаки А-13 проводят в реакциях нейтрализации, задержки гемагглютинации или реакции связывания комплекта.

Для заражения вирусом Коксаки А-13 брали первичную культуру тканей эмбриона человека (ФЭЧ). Кожно-мышечные кусочки человеческого зародыша трипсинизировали на магнитной мешалке 2—3 раза по 7—10 мин в 0,25%-ном растворе трипсина. Полученную взвесь клеток центрифугировали при 1500 об/мин, добавляли питательную среду 199 с 10% сыворотки крупного рогатого скота (из расчета 300 000 клеток на 1 мл среды) и разливали по 5 мл

в камеры. Однослойную культуру клеток эмбриона человека выращивали в термостате при 37°C в течение 3—4 сут.

В подготовленные камеры с выросшей культурой ткани вносили по 0,3 мл вируса (ТОД 30—10⁻⁵) на 5 мл питательной среды. Зараженные камеры монтировали попарно (как указывалось выше) с незараженными, помещали в термостат и выдерживали там до появления четкого цитопатического действия вируса (т. е. до 4—5 сут).

В качестве контроля состояния клеточной культуры ткани использовали смонтированные камеры с культурой той же серии посадки. Через 4—5 сут камеры извлекали, демонтировали, стекла-подложки оттаивали и изготавливали препараты для морфологических исследований. Предварительно из каждой камеры (зараженной и незараженной) забирали культуральную жидкость для пассажа на выделение вируса.

С вирусом Коксаки А-13 исследовано 180 пар камер с кварцевыми подложками с внесением в одну из камер вируса и 180 пар контрольных камер с кварцевыми подложками без вируса. Контрольные камеры находились в тех же условиях культивирования, что и зараженные (вертящийся барабан). Из 180 пар камер с кварцевым стеклом, зараженных вирусом, индуцированное действие в «зеркальной» культуре получено в 131 паре камер, отрицательный эффект — в 49 парах камер. В 180 парах камер, не зараженных вирусом, неспецифической дегенерации не наблюдалось.

Морфологические изменения в клеточных культурах, зараженных вирусом Коксаки А-13

Первые признаки цитопатического действия вируса Коксаки А-13 появляются через 24—36 ч и заключаются в дисконфлексации монослоя и появлении крупных клеток с базофильной цитоплазмой. Число делящихся клеток резко уменьшается. В дальнейшем округлившиеся базофильные клетки подвергаются пикнозу: сморщиваются, становятся полигональными: ядро резко гиперхромно. Затем пикнотизированные клетки разрушаются, и наряду с отдельными сохранившимися фибробластами можно наблюдать пикнотические «обломки» дегенерированных клеток. Их соотношение с нормальными меняется в зависимости от выраженности цитопатического действия. Однако первым этапом дегенерации, как правило, является крупная, округлая базофильная клетка. На поздних стадиях цитопатического действия этих клеток уже нет, и можно видеть два морфологически полярных элемента: нормальный фибробласт и пикнотические «обломки» цитоплазмы и ядер погибших клеток (фото 5).

Морфология «зеркального» ЦПЭ

В «зеркальных» культурах наблюдалось нарушение митотического цикла и угнетение митозов. Появлялись изменения

в хромосомном аппарате: можно было наблюдать гигантские хромосомы, нарушение процесса удвоения хромосом. Наряду с указанным обнаруживалась также дисконплексация клеточного пласта с появлением пикнотически измененных клеток, содержащих большое количество РНК в протоплазме. Подобные клетки в дальнейшем разрушались. Фактически в «зеркальных» культурах наблюдались те же эволютивные формы дегенерации, что и в зараженных вирусом.

Однако темп развития ЦПД в «зеркальных» камерах по сравнению с зараженными был ниже — «зеркальное» ЦПД появлялось на 12—13 ч позднее (фото 6).

Результаты исследований

Положительный «зеркальный» ЦПЭ в опытах с применением в качестве экстремального агента вируса Коксаки А-13 отмечался в 74% случаев (табл. 4). На микрофотографиях препаратов из зараженных и «зеркальных» камер, если камеры — индуктор и детектор имели оптический контакт через кварцевые или слюдяные подложки, видны изменения, специфичные для вируса Коксаки А-13 (фото 7—12).

Контрольная группа состояла из 100 пар камер с простым стеклом в качестве подложки и внесением в одну из них вируса. Ни в одной контрольной паре камер положительного цитопатического эффекта в «зеркальной» культуре не было получено (фото 13, 14), т. е. при наличии специфических изменений в камере-индукторе, зараженной вирусом Коксаки А-13 (см. фото 13), при оптическом контакте через простое стекло в камере-детекторе — нормальная культура (см. фото 14).

В 90 парах камер с простым стеклом и 180 парах с кварцевым незараженных вирусом неспецифической дегенерации не было (см. табл. 4).

При пассаже культуральной жидкости, взятой из камер, в которых клетки культуры были заражены Коксаки А-13, регулярно выделялся вирус, идентифицированный серологически при реак-

Т а б л и ц а 4

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» клеточной культуре при дистантном воздействии культурой, зараженной вирусом Коксаки А-13

Камера	Число исследованных пар камер		
	Всего	С «зеркальным» ЦПЭ	Без зеркального ЦПЭ
Простое стекло + вирус	100	0	100
Простое стекло без вируса	90	0	90
Кварцевое стекло + вирус	180	131	49
Кварцевое стекло без вируса	180	0	180

дии пейтрализации как Коксаки А-13. Из культуральной жидкости «зеркальных» камер, в которых клеточная культура не была заражена вирусом, при 3-кратных последовательных пассажах вирус не выделили.

Для воспроизведения ЦПЭ в «зеркальной» культуре необходимо соблюдение следующих условий.

1. В качестве подложки для клеток применяли кварцевые пластины не толще 0,8 мм.

2. Камеры, соединенные попарно, должны вращаться со скоростью 25 об/ч. В камерах другой конструкции, где предусматривалась возможность исключить вращение при сохранении остальных условий (оптический контакт, свободный доступ питательной среды), «зеркальный» ЦПЭ не развивался.

3. На период контактирования смонтированных пар зараженных и «зеркальных» камер должна быть обеспечена темнота. На свету «зеркальный» цитопатический эффект не проявлялся.

4. Время контакта не менее 6 ч.

Таким образом, при соблюдении определенных условий и прежде всего при наличии оптического контакта через среду с высокой пропускной способностью в УФ-диапазоне электромагнитного спектра цитопатические изменения культуры ткани, вызванные вирусом Коксаки А-13, могут обусловить цитопатические проявления аналогичного характера в интактной культуре.

ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО АГЕНТА ВИРУСА *FPV*

Название «миксовирусы» предложено С. П. Андреевым для группы вирусов, поражающих человека и животных и характеризующихся сродством к мукопротеинам (муко — слизь клеточных оболочек) и ферментативной активностью в отношении этих веществ. Под этим названием объединены вирусы гриппа типов А, В, С; вирусы истинной чумы кур; ложной чумы кур (болезнь Ньюкасла) и эпидемического паротита [Жданов и Букринская, 1969].

Вирус классической чумы птиц принадлежит к типовому виду ортомиксовирусов (*Orthomyxovirus*) и морфологически сходен с вирусом гриппа А. Собственно вирус классической чумы птиц (*FPV*) представляет собой одну из разновидностей вируса гриппа птиц А (*Mixovirus influenza A — virus Focol plaur — 27*).

Это РНК-содержащий вирус средних размеров (90—120 нм), сферической формы, имеющий оболочку. Пуклеокапсид построен по спиральному типу симметрии. *FPV* имеет 2 антигена *V—F* и антиген-гематтгютинин.

Вирус хорошо размножается в алаонтойсной полости 10—11-дневных куриных эмбрионов, вызывая гибель эмбрионов через 18—28 ч. Индикатором размножения вируса служит реакция гематтгютинации. Для пассирования вируса *FPV* на культуре тка-

ни используют следующие клеточные культуры: первичные — фибробласты куриных эмбрионов, почки эмбрионов крупного рогатого скота — и перевиваемые культуры — СПЭВ, БПК, СЭЛ, Нер-1, Hela, А-1 и т. д.

Цитопатический эффект под действием вируса развивается обычно медленно и характеризуется появлением групп округлых зернистых клеток, количество которых увеличивается по мере удлинения сроков инкубирования. Постепенно клетки сморщиваются и отслаиваются от стекла.

Вирус классической чумы птиц избран как обладающий гемагглютинирующими свойствами, по которым его можно обнаружить так же, как и по цитопатическим проявлениям в культуре фибробластов куриного эмбриона.

Для культивирования вируса классической чумы птиц *FPV* использовали клетки фибробластов эмбриона кур 8—11-дневного возраста. Яйца мыли в проточной воде с мылом, затем скорлупу несколько раз обрабатывали спиртом, обжигали тупой конец яйца и обеззараживали йодом. Скорлупу над воздушным пространством срезали ножницами. Извлекали зародыш, удаляли глаза, клюв, лапки и крылья, а тело промывали раствором Хенкса. Суспензию клеток готовили путем механического измельчения зародыша с последующей трипсинизацией ткани. Готовили взвесь клеток фибробластов из расчета 300 000 клеток на 1 мл среды и заливали по 5 мл в камеры. В качестве питательной среды использовали среду 199 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Однослойную культуру клеток фибробластов выращивали в термостате при 37°C в камерах в течение 48 ч. Вирус (предварительно оттитрованный) вносили в культуру клеток в количестве 100 ЦТД.

Использовался штамм вируса классической чумы птиц, полученный из Института вирусологии АМН СССР им. Д. И. Иванковского. Инфекционную активность вируса поддерживали пассажами на куриных эмбрионах. Для заражения культуры ткани в камерах использовали 0,3 мл взвеси вируса с агглютинационным титром 1 : 320 на 5 мл питательной среды.

Эксперимент с вирусом классической чумы птиц проводили по той же схеме, что и с вирусом Коксаки А-13. Поскольку цитопатическое действие вируса классической чумы птиц проявлялось в полной мере к концу 2-х сут после заражения, время контактирования зараженной и «зеркальной» камеры ограничивали 2 сут.

По истечении 2 сут камеры демонтировали, культуральную жидкость в зараженных и «зеркальных» камерах исследовали на наличие гемагглютининов и пассировали на куриных эмбрионах на предмет выявления вируса. Дно камер отпавляли, и растущая на нем культура подвергалась морфологическому исследованию.

Морфологические изменения в культуре куриных фибробластов, зараженных вирусом классической чумы птиц

Морфологические исследования показали, что во всех зараженных камерах наблюдалось цитопатическое действие, характерное для вируса классической чумы птиц. Оно выражалось в дисконфлексации монослоя, округлении большого числа клеток, которые склоны стягиваться в гроздевидные образования. Наряду с этим образуются крупные симпластические структуры, в периферической зоне которых ядра выстраиваются в виде частокола. В последующем отдельные клетки сморщиваются, цитоплазма их окрашивается слабо, а ядра пикнотизируются; такие клетки отслаиваются и окончательный цитоз завершается уже в культуральной жидкости. Ядра симпластов также подвергаются пикнозу, а сами образования теряют способность реагировать с основными и кислыми красителями (фото 15, а, б).

Морфология «зеркального» ЦПЭ

В незараженных «зеркальных» камерах, бывших в оптическом контакте с зараженными, в 74—78% случаев наблюдалось наличие «зеркального» цитопатического действия. На первых этапах развития цитопатического действия в «зеркальной» культуре появляется большое число отдельных базофильных клеток, многие из которых в дальнейшем окончательно не теряют связи друг с другом, вследствие чего монослой подразделяется на ряд гроздевидных клеточных комплексов. Цитоплазма клеток в этих комплексах значительно вакуолизирована, а ядра уплотнены. В дальнейшем комплексы распадаются на отдельные клетки, которые перестают воспринимать кислые красители и отслаиваются от стекла. Специфические симпластические структуры в «зеркальных» культурах не образуются (фото 16, а, б). Таким образом, сходство ряда элементов «зеркального» ЦПЭ с истинным очевидно.

Результаты исследований

С вирусом классической чумы птиц исследовано 118 пар камер с кварцевыми подложками с внесением в одну из камер вируса и 115 пар камер с кварцевыми подложками без внесения вируса (контроль).

В итоге получены следующие результаты: из 118 пар камер с кварцевой подложкой с внесением вируса в одну из камер положительный «зеркальный» цитопатический эффект был получен в 92 парах камер (фото 17, а, б, 18, а, б).

В незараженных 115 парах камер с кварцевым стеклом специфической дегенерации не наблюдалось (табл. 5).

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» клеточной культуре при дистантном воздействии культурой, зараженной вирусом классической чумы птиц

Парные камеры с подложкой	Число исследованных пар камер		
	Всего	С «зеркальным» ЦПЭ	Без «зеркального» ЦПЭ
Простое стекло + вирус	120	—	120
Простое стекло без вируса	100	—	100
Кварцевое стекло + вирус	118	92	26
Кварцевое стекло без вируса	115	—	115

Пассирование культуральной жидкости из зараженных и незараженных камер показало, что вирус присутствует только в зараженных камерах. В «зеркальных» камерах при пассаже вирус не обнаруживался. При постановке гемагглютинации с петушиными эритроцитами и культуральной жидкостью из зараженных камер гемагглютинация отмечена в титрах 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160. Культуральная жидкость из зеркальных камер даже при наличии «зеркального» цитопатического действия положительной реакции не давала, что свидетельствует об отсутствии вируса. Обнаружено, что для развития «зеркального» цитопатического действия требуется не менее 4 ч контакта между зараженной и незараженной камерами. Остальные условия получения «зеркального» ЦПЭ аналогичны описанному в разделе о вирусах Коксаки А-13. Выраженность дегенеративных изменений в «зеркальных» камерах варьировала и зависела от времени контакта с зараженной культурой.

При проведении контрольных опытов с заражением вирусом *FPV* — 120 пар камер с простым стеклом и 100 пар камер с простым стеклом, не зараженных вирусом, находившихся в тех же условиях культивирования, что и первые, в камерах, зараженных вирусом, проявлялось его цитопатическое действие, в «зеркальных» же камерах культура хорошо росла, никаких дегенеративных изменений не наблюдалось (фото 19, 20). В 100 парах незараженных камер, культивируемых в тех же условиях, ткань была без цитопатических изменений. Из полученных результатов видно, что при использовании в качестве экстремального для клеток культуры ткани агента в виде вируса классической чумы птиц «зеркальное» цитопатическое действие, напоминающее по морфологии вирусное, наблюдалось в 78% случаев. Отсутствие вируса в культуральной жидкости из «зеркальной» камеры при трех последовательных пассажах убедительно указывает на то, что полученный ЦПЭ не связан со случайным внесением в «зеркальные» камеры инфекционного начала.

ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО АГЕНТА АДЕНОВИРУСА

Аденовирусы — это вирусы средних размеров (70—90 нм), не содержащие оболочек. В состав вирусных частиц входит дезоксирибонуклеиновая кислота; размножение вируса происходит в ядрах инфицированных клеток. Частицы вируса имеют форму икосаэдра с 252 капсомерами.

Аденовирусы, насчитывающие по меньшей мере 31 антигенный тип, составляют отдельную группу микроорганизмов, вызывающих у человека инфекцию преимущественно дыхательных путей и глаз. Вирусы, входящие в группу, обладают общим группоспецифическим антигеном, обнаруживаемым реакцией связывания комплемента, и типоспецифическими антигенами, которые выявляются в реакциях нейтрализации и торможения гемагглютинации. К важным свойствам аденовирусов относятся устойчивость к эфиру, относительная устойчивость в широких границах pH и способность к размножению, сопровождающаяся цитопатическими изменениями в различных культурах клеток человека и обезьян.

При наблюдении пассивных неокрашенных клеточных культур, зараженных аденовирусами, по данным некоторых авторов, удастся выделить три разновидности цитопатических изменений: 1) ЦПЭ общего типа (характеризующийся равномерным распределением округленных клеток с повышенным коэффициентом лучепреломления; 2) ЦПЭ периферического типа (первые изменения появляются на периферии зараженного клеточного пласта, пораженные клетки собираются в группы, напоминающие гроздь винограда); 3) ЦПЭ «гнездного» типа. На фиксированных окрашенных препаратах цитопатическое действие аденовирусов человека на чувствительные культуры впервые наблюдается примерно через 16—18 ч после инокуляции. Вначале в ядрах появляются мелкие округлые оксифильные включения размером около 1 мкм, окруженные светлой зоной («гало»). В некоторых случаях включения однородны, в других — имеют форму колец с прозрачной сердцевинкой, очень слабо красятся эозином. В дальнейшем число таких ранних включений быстро нарастает. Иногда они тесно прилегают друг к другу. Часто встречаются слоистые многоконтурные включения. Описываемые изменения наблюдаются в течение первых суток инфекции. За это время резко увеличиваются размеры ядер пораженных клеток. Наблюдаются нарушения агрегатного состояния хроматина, его огрубение, формирование сетчатых структур; появление хроматина в виде глыбок и зерен. На поздних сроках инфекции наблюдаются глыбки эозинофильного или базофильного материала в цитоплазме клеток, пораженных аденовирусом. Процесс завершается сморщиванием и отторжением клеток [Дрейзин, 1966].

В этой серии экспериментов использовался аденовирус 5-го типа, хорошо размножающийся в клетках перевиваемой культуры почек обезьяны (МК) с ярким цитопатическим действием.

Культуру ткани МК снимали раствором версена со стекла матрасов, на которых ее культивировали; центрифугировали, а осадок разводили питательной средой 199 плюс 10% сыворотки крупного рогатого скота (из расчета 100—120 тыс. клеток на 1 мл среды) и разливали в камеры по 5 мл в каждую. В камеру с выросшей культурой ткани вносили по 0,5 мл взвеси аденовируса 5-го типа (ТПД₅₀) на 5 мл питательной среды. Затем зараженные камеры соединяли с интактными и помещали в термостат с вращающимся барабаном на 2—3 сут. В течение этого периода времени цитопатическое действие вируса проявлялось в полной мере. В дальнейшем камеры демонтировали, культуральную жидкость забирали для пассажа на выделение вируса, культуру клеток, выросшую на дне-подложке, подвергали морфологическому исследованию.

Морфология ЦПД аденовируса 5-го типа

В зараженных вирусом камерах с культурой клеток МК наблюдали все характерные признаки цитопатического действия аденовируса. Они выражались в разбухании и округлении клеток, которые собирались затем в агрегаты типа тутовой ягоды. В некоторых клетках образовывались внутриклеточные ядерные и цитоплазматические включения. В дальнейшем клетки подвергались пикнозу, лизису и отслаивались от стекла (фото 21).

Морфология «зеркального» ЦПД

В незараженных камерах, находящихся в контакте с зараженными в течение 2—3 сут, в 72% случаев наблюдался «зеркальный» ЦПД. Он выражался в дезинтеграции монослоя, в тенденции к агрегации в виде тутовой ягоды отдельных элементов, в некотором набухании и последующем значительном сморщивании клеток. На завершающем этапе происходила почти тотальная гибель клеток, подвергавшихся в конечном итоге лизису (фото 22).

Результаты экспериментов

С аденовирусом 5-го типа исследовано 170 пар камер с кварцевыми стеклами с внесением в одну из камер вируса (опыт) и 140 пар камер с кварцевыми стеклами без внесения вируса (контроль). Из 170 опытных пар камер в 122 парах наблюдалось индуцированное «зеркальное» ЦПД (фото 23—26). В 140 контрольных парах камер неспецифической дегенерации не наблюдали (табл. 6).

В контрольных опытах с аденовирусом взято 150 пар камер с простым стеклом в качестве подложки. Во всех камерах, зара-

Таблица 6

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» клеточной культуре при дистантном воздействии культурой, зараженной аденовирусом 5-го типа

Парные камеры с подложкой	Число исследованных пар камер		
	всего	с «зеркальным» ЦПЭ	без «зеркального» ЦПЭ
Простое стекло + вирус . . .	150	—	150
Простое стекло без вируса . .	140	—	140
Кварцевое стекло + вирус .	170	122	148
Кварцевое стекло без вируса .	140	--	140

женных вирусом, цитопатическое действие аденовируса 5-го типа соответствовало вышеописанному, а в «зеркальных» камерах ЦПД не наблюдалось, ткань оставалась нормальной (фото 27, 28). В контрольных 140 камерах с простым стеклом и с незараженной тканью неспецифической дегенерации не наблюдали.

При последовательных пассажах культуральной жидкости, взятой из камер с «зеркальным» ЦПД, вирус не выделялся.

Для развития «зеркального» цитопатического действия при применении в качестве экстремального агента аденовируса необходимы те же условия, что и при использовании вируса Коксаки А-13 и вируса классической чумы птиц: использование для подложек кварцевых пластинок толщиной 0,2—0,8 мм; вращение камер; темнота в период контактирования камер; контакт интактной камеры с зараженной не менее 6 ч.

Таким образом, применение третьего экстремального агента — аденовируса, дало возможность вновь продемонстрировать наличие дистантных взаимодействий в 72% всех опытов.

ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО АГЕНТА ДВУХЛОРИСТОЙ РТУТИ (СУЛЕМЫ)

В качестве еще одной модели цитопатического состояния избрана токсическое поражение клеток культуры ткани куриных и человеческих фибробластов двухлористой ртутью (сулемой). Механизм действия сулемы связан с блокированием сульфгидрильных групп, входящих в состав ферментных систем клетки, а также с нарушением биохимической функции тиамина и некоторых аминокислот.

Применялась не коагулирующая, а токсически доза двухлористой ртути, которая вследствие блокады дыхательных ферментов приводила к гибели клеток культуры ткани через 2—3 сут (доза определена авторами).

Доза раствора сулемы оттитрована на культуре человеческих эмбриональных клеток и клеток куриного эмбриона. Была выбра-

на такая доза сулемы, которая вызывала сулемовый ЦПЭ на 3-и сут после добавления к питательной среде. Доза сулемы равнялась 4—5-у на 1 мл питательной среды.

Как обычно камеры с внесеппой сулемой попарно соединялись с иптактными «зеркальными камерами» и в дальнейшем содержались в описанных ранее условиях.

Через 2—3 сут в камерах с сулемой развивался цитопатический эффект, выражающийся в дезинтеграции монослоя, зернистой и вакуольной дистрофии клеток и кариопикнозе. Процесс завершался тотальной гибелью монослоя (фото 29).

В «зеркальных» камерах наблюдался «зеркальный» ЦПЭ, заключавшийся также в дезинтеграции монослоя, вакуолизации и зернистой дистрофии цитоплазмы, кариопикнозе. По степени выраженности процесса гибели клеток «зеркальный» ЦПД несколько отставал от истинного, вызванного сулемой (фото 30).

В серии опытов с сулемой исследованы 120 пар камер с кварцевыми подложками с внесеппой сулемой (опыт) и 110 пар камер с кварцевыми подложками без сулемы (контроль) (табл. 7). Из 120 пар опытных камер в 94 случаях получен «зеркальный» ЦПЭ (фото 31—34). В 110 парах камер с кварцевым стеклом неспецифической дегенерации клеточного монослоя не наблюдалось.

В контрольной группе, состоящей из 92 пар камер с простыми стеклами с внесением сулемы, цитопатический эффект в «зеркальных» камерах не наблюдали (фото 35, 36) и в 90 парах камер с простым стеклом без добавления сулемы спонтанная неспецифическая клеточная дегенерация не наступала.

Получение «зеркального» ЦПЭ в опытах с сулемой еще раз подтвердило необходимость соблюдения тех же условий проведения эксперимента, что и при использовании вирусов. Наименьшее время контакта, необходимое для проявления «зеркального» ЦПЭ, равнялось также 6 ч.

Итак, применение в качестве экстремального агента токсического начала — сулемы, оказалось вполне эффективным (78% положительных результатов) для получения «зеркального» эффекта, свидетельствующего о наличии дистантной межклеточной связи.

Т а б л и ц а 7

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» клеточной культуре при дистантном воздействии культурой, пораженной двуххлористой ртутью

Парные камеры с подложкой	Число исследованных пар камер		
	всего	с «зеркальным» ЦПЭ	без «зеркального» ЦПЭ
Простое стекло + сулема	92	—	92
Простое стекло без сулемы	90	—	90
Кварцевое стекло + сулема	120	94	26
Кварцевое стекло без сулемы	110	—	110

ПОЛУЧЕНИЕ «ЗЕРКАЛЬНОГО» ЦИЭ ПРИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ ПЕРЕПАССАЖАХ

Проведена серия экспериментов на возможность перепассажа «зеркального» ЦИЭ. К «зеркальному» кварцевому стеклу-подложке, находившемуся в 4—6-часовом контакте с зараженной вирусом Коксаки А-13, *FPV*, аденовирусом 5-го типа или пораженной сулемой камерой (индуктором), вновь монтировалось новое кварцевое стекло-подложка с выросшей клеточной культурой, не пораженной никаким экстремальным агентом (новая «зеркальная» камера); исследования проводили до трех пассажей.

Обнаружено, что от пассажа к пассажи «зеркальный» эффект передается, постепенно угасая к третьему пассажи.

ДИСТАНТНЫЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ДЕЙСТВИИ ФИЗИЧЕСКОГО ЭКСТРЕМАЛЬНОГО АГЕНТА — УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ РАДИАЦИИ

Дистантные межклеточные взаимодействия обнаружены нами при действии на клетку экстремальных агентов биологической и химической природы; естественно возникает вопрос о проявлении феномена взаимодействий при использовании экстремального агента физического характера, например УФ-радиации.

По мнению большинства исследователей, в основе биологического действия УФ-излучения лежат фотохимические превращения биомолекул — белков, нуклеиновых кислот и структурных липидов, участвующих в образовании биомембран; эти превращения могут привести к поражению наследственного аппарата или мембранных образований. Ингибирование деления, мутации и гибель клеток в результате облучения в большинстве случаев относятся за счет тех или иных повреждений ядра клетки. Описаны нарушения в структуре ДНК в результате прямого (образования димеров) или опосредованного действия УФ-излучения [Копылов, Королькова, 1973; Самойлова, 1975]. Вместе с тем эти явления могут быть сопряжены и с повреждениями иных клеточных структур [Арман и др., 1971]. Основные эффекты воздействия УФ на клеточные мембранные структуры — увеличение их проницаемости для неорганических ионов и подавление активности отдельных мембранных ферментов и ферментативных комплексов [Рощупкин, 1973; Владимиров, Рощупкин, 1975]. Наиболее важным следует считать ослабление функции пассивного барьера для неорганических ионов, которое наблюдается при небольших дозах облучения, когда фотоинактивация ферментов еще не наблюдается. Нарушение барьерной функции мембран, даже в незначительной степени, может привести к гибели клетки. Кроме эффекта отдаленной гибели клеток УФ-излучение в зависимости от дозы и спектра, а также

от физиологического состояния клетки может привести к стимуляции или торможению деления, а также к повышению жизнеспособности культур, находящихся в угнетенном состоянии. Механизм действия и особенно последствия УФ-радиации на биологические системы пока не имеет общепринятого объяснения, однако описана специфичность воздействия УФ-облучения на различных уровнях организации живой природы.

Мы проводили исследования действия УФ-излучения на клетки различных культур ткани по двум направлениям. С одной стороны, УФ-радиация рассматривалась как экстремальный агент, вызывающий гибель клеток, со специфичной морфологической картиной и инициирующий «зеркальный» ЦПЭ в гомологичной культуре-детекторе. С другой стороны, выяснялась роль в проявлении «зеркального» эффекта малых доз УФ-радиации, которой облучали культуры-детекторы, имеющие оптический контакт с камерой-индуктором, в которой клетки поражены вирусом. Подбирались дозы облучения, не вызывающие видимых морфологических изменений в клетках культуры-детектора, а УФ-излучение предположительно можно было рассматривать как превентивное торможение клеточной системы [Плеханов, 1956] при действии стимула подпороговой интенсивности.

В первой серии опытов одну из культур облучали летальной дозой УФ, вторая служила детектором («зеркальная» культура). Источником УФ-радиации была лампа БУВ-30, удаленная на 50 см от камер с клеточной культурой. Дозу облучения подбирали экспериментально так, чтобы получить полную гибель клеточного монослоя через 2—3 сут с характерной для УФ-радиации морфологической картиной (45—50 с). Исследования проводили как на первично трипсинизированных клеточных линиях (ФЭЧ, КЭ), так и на различных перевиваемых клеточных культурах. Камеры с культурой клеток, выращенной на кварцевой подложке и облученной летальной дозой УФ-радиации, стыковали с необлученными камерами с клеточной культурой и помещали в термостат на вращающийся барабан. Через 2 сут камеры извлекали, демонтировали, подложки с выращенными клетками отпаивали, после фиксации и окрашивания культуры подвергали морфологическому исследованию. Препараты фиксировали метиловым спиртом или 10%-ным формалином и окрашивали по Романовскому, Браше гематоксилин-эозином.

Морфологические изменения в клеточной культуре, пораженной УФ-радиацией, соответствовали описанным в литературе: первоначально клетки теряют свои тинкториальные свойства и, прежде всего, перестают окрашиваться основными красителями. В дальнейшем ядерное вещество конденсируется в плотное гиперхромное тело. Цитоплазма остается оксифильной. Затем ядерное вещество распадается, а клетки превращаются в округлые плазматические образования, подвергающиеся глыбчатому распаду. В случае выраженного ЦПЭ весь монослой представляет собой

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» клеточной культуре при контакте с облученной ультрафиолетом камерой

Вид опыта	Тип подложек в стыкованной паре камер (детектор индуктор)	Время УФ-облучения, с	Камера А ЦПЭ УФ	Камера В («зеркальный» ЦПЭ)	Число опытов
Контроль ткани	Кварцевое Кварцевое	Не облуч.	0	0	100
» »	Стекло Стекло	»	0	0	100
» подложки	Кварцевое + УФ Стекло	45 (камера А)	100	0	100
Опыт	Кварцевое + УФ Кварцевое	45 (камера А)	500	389	500

Примечание. Камера А — детектор, камера В — индуктор.

поле, усеянное глыбчатыми бесструктурными оксифильными массами (фото 37). В «зеркальных» культурах характер морфологических изменений менее выражен, но по существу идентичен (фото 38). В облученных и «зеркальных» препаратах (фото 39, 40), как правило, гибель клеток начинается с центра, а по периферии в течение некоторого времени сохраняется кольцевая зона нормальной ткани, что, по-видимому, связано с процессами рассеивания и поглощения света на грани раздела двух оптических сред: кварцевое стекло — камера. Все эксперименты сопровождали контролями на выявление спонтанной дегенерации в необлученной культуре. Камеры с выросшей культурой клеток монтируются попарно и помещаются в термостат вместе с опытными, через 48 ч камеры демонтируются, а клетки на стеклах-подложках окрашиваются азури-В-эозином, и препарат просматривается на наличие неспецифической спонтанной дегенерации. В контроле условий опытов вместо кварцевой подложки использовали простое стекло. Методика эксперимента та же. При использовании простых стекол «зеркальный» ЦПЭ не развивался, в то время как в облученной камере появлялась морфологическая картина, характерная для УФ-излучения (фото 41, 42).

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» культуре при контакте с облученной клеточной культурой наблюдалось в 389 случаях из 500 (табл. 8).

В результате этой работы показано, что при действии УФ-радиации возникает «зеркальный» ЦПЭ. Число камер с положительным «зеркальным» ЦПЭ составляет 78%. Наличие эффекта не может быть артефактором, так как передача «инфекционного» начала из одной камеры в другую исключается физической природой

экстремального агента. Эта работа еще раз подтверждает наличие дистантных межклеточных взаимоотношений, обусловленных наличием оптического контакта, который характеризуется тем, что используемые оптические среды хорошо пропускают ультрафиолет. Условия получения «зеркального» эффекта аналогичны описанным выше — вращение, проведение эксперимента в темноте, достаточное время контакта (не менее 4—6 ч).

Процесс гибели клеток при действии на них повреждающих агентов описан Д. П. Насоновым и В. Я. Александровым (1940). Вначале изменения носят неспецифический характер. Впоследствии на фоне неспецифических изменений проявляются характерные морфологические особенности, специфические для вызывающего их раздражителя. Мы неоднократно подчеркивали, что для проявления специфических черт ЦПЭ необходим некоторый промежуток времени. Сигналы от погибавших клеток культуры-индуктора воспринимаются культурой-детектором, в которой развиваются неспецифические изменения, а спустя некоторое время, в зависимости от состояния гомеостаза клетки и его взаимодействия с экзогенными факторами, клетки «зеркальной» культуры гибнут с характерными признаками специфики данного воздействия.

Цейтраферная киносъемка в течение 72 ч развития «зеркального» ЦПЭ при поражении клеточного мопослоя УФ-радиацией полностью подтвердила сходство морфологической картины поражения и гибели клеточного индуктора и детектора при УФ-облучении с некоторым (12 ч) запаздыванием развития цитопатического эффекта в «зеркальной» культуре-детекторе.

Во второй серии экспериментов выяснялась роль малых доз УФ-радиации, воздействующей на культуру-детектор при воспроизведении «зеркального» ЦПЭ с помощью вирусного поражения клеток культуры-индуктора. «Зеркальная» культура подвергалась предварительному УФ-облучению малой дозой перед стыкованием с зараженной вирусом камерой. Доза подбиралась экспериментально к каждой серии опытов (10—15 с облучения лампой БУВ-30 на расстоянии 0,5 м). Использовался аденовирус 5-го типа. Опыт проводился по обычной методике. Через 48—72 ч камеры демонтировались, а клетки на стеклах-подложках окрашивались азур-II-эозином. Результаты опытов представлены в табл. 9.

Как видно из представленного материала, облучение мопослоя в «зеркальной» камере малой дозой УФ способствует проявлению «зеркального» ЦПЭ в 100%. Клеточная культура в контрольных экспериментах в условиях такого же облучения остается непораженной.

О стимулирующем действии малых доз радиации на различные биологические объекты существует довольно много указаний [Cork, 1957; Carlson e. a., 1957; Тимофеев-Ресовский, Лучник, 1957; Кузин, Юсипов, 1967]. По литературным данным известно, что если воздействовать раздражителем на клеточную популяцию

Таблица 9

Воспроизведение ЦПЭ в «зеркальной» культуре при предварительном облучении ее малыми дозами УФ-радиации

Вид опыта	Тип подложки (детектор индуктор)	Время облучения, с	Экстремальный агент	Камера А (ЦПЭ вир)	Камера В («зеркаль- ный» ЦПЭ)	Число опы- тов
Контроль ткани	Кварцевое	Не облучался	Не вносился	0	0	100
	Кварцевое			0	0	100
	Стекло			0	0	100
Контроль правильности выбора доз УФ	Кварцевое	15	»	0	0	100
	Кварцевое	(камера В)	»	0	0	100
	Стекло	(камера В)				
Облучение камеры В	Стекло	15	Ad-5	159	158	159
	Кварцевое	(камера В)	(камера А)			

Примечание. Камера А — индуктор, камера В — детектор.

тотчас же после облучения, то наблюдается усиление действия последнего [Календо, 1972].

Известно, что клетки в процессе перехода из одного состояния в другое наиболее уязвимы. Чувствительность их к повреждению в это время может быть очень высокой. Например, известно, что на протяжении митотического цикла клетки неоднократно вступают в критические периоды (переходы профазы — метафаза, метафаза — анафаза и др.) [Епифанова, 1965]. При этих фазовых переходах радиочувствительность клеток может возрастать в 20 раз [Кузин, Юсипов, 1967].

В экспериментах с предварительным УФ-облучением культуры-детектора УФ-радиация не вызывает гибели клеточной популяции, но является фактором, нарушающим устойчивую неравновесность клетки, происходят изменения на уровне молекулярных комплексов, вызывающие репаративные процессы; это качественно новый уровень, на котором живые клетки могли бы адаптироваться, но они получают от зараженных вирусом клеток новый сигнал, вызывающий изменения, приводящие к гибели. В результате многократной дестабилизации репаративные процессы в клетках становятся несостоятельными, что проявляется в увеличении количества случаев с положительным «зеркальным» ЦПЭ (до 99,9%).

ДИСТАНТНЫЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МОДЕЛИ УПРАВЛЯЕМОГО МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА

Одним из подходов к изучению электромагнитного капала связи, который, как мы предполагаем, лежит в ультрафиолетовой области спектра и играет определенную роль в развитии цитопатиче-

ского эффекта, является создание конструктивной модели, позволяющей исследовать биологическую роль электромагнитного излучения в жизненном цикле клетки, в отличие от ранее использованной модели экстремального воздействия на клеточную систему. В этой модели информация касается изменения жизненного цикла клеток монослоя путем введения митостатического вещества в нормально развивающуюся культуру ткани и передачи этого воздействия «зеркальной» культуре клеток.

На протяжении жизненного цикла клетка может переходить к процессу пролиферации из состояния покоя и из состояния выполнения специфической функции [Епифанова и др., 1967; Алов и др., 1969; Аспиз, 1974]. Это заставляет предположить, что существует сложная система регуляторных механизмов пролиферации, а не наличие единого пускового механизма митоза, типа триггерного. На основании полученных данных появляется возможность вмешательства в процесс размножения клеток на разных этапах из жизненного цикла [Епифанова, 1973]. Жизненный цикл клеток, сохранивших способность к митозу, расчленяется на несколько этапов. Митоз представляет собой конечный этап целого ряда процессов, объединенных под названием митотического цикла. Представления о регуляции митотического цикла в настоящее время расширились: не все процессы митотического цикла можно объяснить последовательным функционированием отдельных генов. Предполагается [Епифанова, 1973], что многие важные процессы регулируются уровнем конечных продуктов, т. е. по принципу обратной связи. Ведутся исследования не только собственно митотического цикла, но и процессов, связанных со вступлением клетки в цикл и переходом ее в состояние покоя (гетеросинтетическая и автосинтетическая интерфаза). Возможность расчленения клеточного цикла с помощью различных ингибиторов (колхицин, колцемид, пуромидин и т. д.) и возможность изучения каждого периода цикла в отдельности позволили нам получить новую модель дистантных межклеточных взаимодействий с помощью колцемида, вызывающего метафазный блок (к-митозы) в камере-индукторе, и передачу этой информации в «зеркальную» камеру. К-митозы получали, обрабатывая культуру клеток производным колхицина — колцемидом (*N*-диацитил-*N*-метиоколхицин). Изменения показателей митотического режима «зеркальной» культуры изучали при получении колцемидного митоза в опытной камере путем введения в последнюю 0,02 мкг/мл колцемида. Данная концентрация оказалась наиболее подходящей для получения оптимального количества митотических клеток и наименее токсичной при 24-часовой экспозиции.

Действие колцемида на клетку обратимо, причем по сравнению с другими митостатическими агентами этот алкалоид более эффективен и менее токсичен [Stubblefield, 1965]. Колцемид — наиболее часто применяемый ингибитор при выходе из метафазного блока. Этот алкалоид ингибирует полимеризацию блоковых субъ-

единиц, из которых образуются микротрубочки веретена — структуры, обеспечивающие расхождение хромосом и останавливающие митоз на стадии перехода от метафазы к анафазе. После отмывания клеток от коллемеда и при использовании его в оптимальных концентрациях не наблюдается изменений в строении митотического аппарата клеток. В литературе имеются данные о морфологических изменениях клеток, обработанных коллемеидом [Holtzer, 1975], но использование ингибитора в опытах на различных культурах ткани в зависимости от концентрации и времени действия ингибитора [Lalley, 1974]. Показано, что коллемеид не препятствует переходу клеток от взвешенного в среде состояния к прочному прикреплению к субстрату [Ivanova, 1976].

Опыты проводили на культуре клеток *Пер-2* (перевиваемая линия злокачественной эпителиальной ткани, полученная из раковой опухоли гортани человека) и *РН* (перевиваемая линия доброкачественной эпителиальной ткани, полученная из почки человека). Клетки выращивали по общепринятой методике. Плотность посева составляла 80 тыс./мл. В опытах использовали 24-часовую культуру. Конечная концентрация коллемеда равнялась 0,02 мкг/мл. Контролем служила культура, инкубирующаяся в одинаковых условиях, но без добавления коллемеда, лишь со сменой ростовой среды, параллельно с опытными культурами. Исследования проводили следующим образом. На монослой, выращенный на кварцевых стеклах в камерах, наносился коллемеид — 0,02 мкг/мл одновременно с заменой ростовой среды на среду 199 без бычьей сыворотки. Дальнейшее культивирование клеток происходило в соответствии с ранее использованной методикой постановки опытов на кварцевых стеклах (получение «зеркального» ЦПЭ). Через сутки камеры снимали, стекла фиксировали метанолом 15 мин и окрашивали гематоксилин-эозином. Результаты обрабатывали по методике, предложенной С. Б. Стефановым (1974а, б).

Морфологическую обработку препаратов проводили с помощью морфометрической сетки. Сетка состоит из тонких волокон, натянутых на кольцо, которое вкладывается в окуляр микроскопа, на плоскость его диафрагмы. Она состоит из 16 квадратов одинаковой величины, образующих большой квадрат или полное рабочее поле сетки. Измеряющими элементами сетки являются узлы, образуемые перекрестками нитей сети в пределах рабочего поля. Измеряемые объекты характеризуются тремя величинами: K — количество объектов на площади сетки; P — число узлов сетки, попавших в объекты данного класса; T — число пересечений контуров объектов данного класса с линиями сетки. Если фигуры рассеяны строго случайно по препарату или его части, выделенной объективными границами, то эти величины связаны с характеристиками препарата прямой пропорциональностью: $K \propto K$ (среднему количеству объектов на площади), $P \propto S$ (средней площади фигур на

площади препарата), $T \propto l$ (средней длине контуров объектов данного класса на площади препарата).

Эти три величины необходимы и достаточны для сравнения фигур в подавляющем большинстве задач экспериментальной и диагностической морфологии.

Увеличение микроскопа и величина сетки выбираются так, чтобы число объектов в поле зрения в среднем не превышало 5—7.

Число K определяется в выбранном рабочем поле. Границы рабочего поля разделяются на две одинаковые по длине области — разрешенную и запрещенную. Все объекты, расположенные внутри рабочего поля или пересекающие его разрешенную границу, учитываются и входят в число K ; все фигуры, пересекающие запрещенную границу, не учитываются. Число S_P определяется в том случае, когда требуется выяснить соотношение площадей двух или нескольких объектов. S_P подсчитывается по всем 25 узлам сетки. К задачам измерения S_P относится определение ядро-клеточного или ядро-плазменного отношения. При этом подсчитывается число узлов, попавших на ядро, на цитоплазму, и после статистической обработки определяется отношение. Число T находится подобным же образом.

Целью статистической обработки является приведение множества данных к такому виду, который позволяет сравнивать между собой величины на объективной основе. Эта цель достигается в том случае, когда средние величины дополнены величинами их доверительных интервалов.

Доверительный интервал вычисляется наиболее строго в множествах, подчиненных закону нормального распределения. Для полной гарантии нормальности полученных распределений множество разбивается на несколько случайных групп (подвыборок), средние которых распределяются нормально (по центральному правилу Чебышева).

Морфометрические данные записываются в таблицу, каждая строка которой содержит 10 гнезд для записи 10 величин, полученных в процессе измерения. Так формируются подвыборки по 10 величин. Их сумма, деленная на 10, дает среднюю для подвыборок M_{10} . По нескольким десяткам подвыборок получают несколько M_{10} , для которых вычисляют среднюю средних $M_n = M_{10}$, где n — число десятков. Доверительный интервал вычисляют по формуле Стрелкова $L = AR$, где L — доверительный интервал; A — амплитуда вариационного ряда, R — коэффициент Стрелкова.

Из результатов опытов (табл. 10) мы получили наглядную картину изменения жизненного цикла культуры клеток в «зеркальной» культуре после 24-часовой экспозиции с клетками, подвергавшимися действию колцемида.

Митотическая активность в «зеркальных» препаратах более чем в 2 раза превышает митотическую активность в контроле, что свидетельствует о передаче не только цитопатического действия

Таблица 10

Влияние культуры клеток, обработанных коллемеидом, на клеточный цикл «зеркальной» культуры клеток

Митотическая активность в монослое, %			Плотность роста монослой, %		
с коллемеидом	«зеркальная»	контрольная	с коллемеидом	«зеркального»	контрольного
0,2±0,02	1,4±0,07	0,9±0,09	6,3±0,4	14±0,6	13±0,8
0	1,3±0,06	0,9±0,09	0	14±0,4	13±0,8
0	1,2±0,05	0,6±0,05	0	6,2±0,6	7,4±0,5
0,06±0,007	2,0±0,06	0,9±0,06	2,2±0,3	6,8±0,2	6,4±0,5
0,16±0,01	1,5±0,06	0,7±0,04	4,6±0,4	5,8±0,6	7,2±0,5
0	2,9±0,1	1,8±0,05	0	18±1,2	18,5±1,2

Примечание. Вид ткани: первые три опыта—*Нер*—2, последующие—*РН*.

(факт, установленный в наших ранее проведенных опытах), но и о возможности дистантно изменять жизненный цикл клетки.

Число ядер на единицу площади в «зеркальных» препаратах (параметр S_p) практически не отличается от этого параметра контроля, что, вероятно, указывает на одинаковую скорость образования монослоя в сравниваемых культурах клеток и одинаковое поведение культур в исследуемые сроки опыта. Митотическая активность опытных культур намного меньше, чем контроля и «зеркальных» препаратов (см. табл. 10).

S_p опытных препаратов также значительно ниже (в 2 раза) S_p контрольных и «зеркальных» препаратов. Это связано с токсическим действием коллемеида, а также с тем, что митотические клетки имеют слабый контакт с подложкой и легко смываются при вращении в барабане (на этом явлении основан один из методов получения синхронной культуры). Так как ЦПЭ в «зеркальной» камере, по нашим данным, запаздывает на 10—12 ч, то митотические клетки еще держатся на стекле и их в 2 раза больше, чем в коллемеидной камере.

Всего проведено 180 экспериментов, из них 90 контрольных, в которых обнаружено наличие дистантных межклеточных взаимодействий между изолированными культурами ткани при действии коллемеида на клеточную культуру.

При 24-часовом оптическом контакте культуры клеток, обработанных коллемеидом, с «зеркальной» культурой в 51 «зеркальной» камере (из 90) обнаружена четкая картина коллемеидного блока, вызванного дистантным воздействием клеток индуктора, в которых развивается истинный процесс ингибирования полимеризации белковых субъединиц.

Количество ядер на единицу площади (показатель S_p) контроля и «зеркала» имеет равные по величине значения, что свидетель-

ствует о нормальном состоянии монослоя в контрольных и «зеркальных» камерах в отличие от камер, в которые был внесен колцемид, вызывающий, по всей видимости, не только изменения митотического цикла, но и метаболические нарушения в клетках.

Подробно передачу изменений митотической активности исследовали минские ученые В. А. Мостовников и И. В. Хохлов (1977). Используя оригинальную методику биодетекции, они обнаружили угнетение и стимуляцию митотической активности в культуре-детекторе под действием электромагнитной волны, преломленной алюминиевым зеркалом, что полностью устраняет все сомнения о природе материального носителя информации при наблюдении дистантных межклеточных взаимодействий. В качестве экстремальных агентов В. А. Мостовников и И. В. Хохлов использовали излучение различных лазеров и химические мутагены (колхицин и диметилсульфат).

В результате спектрального анализа минскими учеными показано, что излучение, вызывающее митотические изменения, расположено в диапазоне 250—500 нм.

ОЦЕНКА ДОСТОВЕРНОСТИ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

При статистической обработке описанных в предыдущих главах результатов наших исследований мы их рассматривали как противопоставляемые друг другу (альтернативные) состояния: положительный «зеркальный» эффект (+) и отрицательный «зеркальный» эффект (—). Необходимо оценить вероятность появления каждого из альтернативных признаков и значимость различия (или сходства) воздействия различных факторов (различных экстремальных агентов; различных каналов связи — кварцевое или простое стекло; дополнительного кратковременного УФ-облучения культуры-детектора) на появление «зеркального» эффекта.

Альтернативные признаки выражаются в абсолютных значениях частот: m — число опытов с положительным «зеркальным» эффектом; $n - m$ — число опытов с отрицательным «зеркальным» эффектом, где n — общее число опытов; или долей единицы — $p = m/n$; $q = 1 - m/n$; или в процентах от общего числа наблюдений. Как все биологические признаки, альтернативы варьируют по величине, и поэтому к ним применены законы вариации и статистические характеристики: арифметическое среднее (\bar{p}), ошибка репрезентативности $\left(m_p = \sqrt{\frac{p(100-p)}{n}}\right)$, определяющая погрешность оценки; доверительный интервал, в котором с определенной вероятностью находится генеральный параметр: $\bar{p} \pm tm_p$, где $tm_p = \Delta p$ — доверительная граница доли положительных «зеркальных» эффектов, т. е. та максимальная ошибка, с которой оце-

**Статистическая обработка результатов проявления
«зеркального» ЦПЭ**

Статистическая характеристика	Экстремальный агент							
	Вирус Ad-5	Вирус Коксаки А-13	В р с FPV	Суклема	УФ-радиация (1 мин)	Кошенил	Вирус Ad-5 с предварительным УФ-облучением 15 с вультра-ультрафиолетовом	Контрольные эксперименты
Число опытов:								
всего	170	180	118	120	500	90	159	1500
с положительным «зеркальным» ЦПЭ	122	131	92	94	389	51	157	0
Среднее арифметическое:								
в долях единицы	0,72	0,75	0,78	0,78	0,78	0,57	0,99	0
в процентах	72	75	78	78	78	57	99	0
Ошибка репрезентативности, %	3,4	3,2	3,8	3,8	1,9	5,3	0,8	0
Верхняя доверительная граница, %								
$P=95$	77	81	85	85	81	67	100	0
$P=99,9$	88	86	91	91	84	74	100	0
Нижняя доверительная граница, %								
$P=95$	65	69	71	71	74	47	97	0
$P=99,9$	61	61	65	65	71	40	96	0
Доверительный интервал, %								
$P=95$	6,6	6,2	7,4	7,4	3,7	10,3	1,5	0
$P=99,9$	11,2	10,5	12,5	12,5	6,2	17,4	2,6	0

нивается генеральная доля по данным выборочных наблюдений.

Величина t (нормированное отклонение от среднего значения) определяется по специальным таблицам: так, для доверительной вероятности $P = 95\%$ (5%-ный уровень значимости) $t = 1,96$, а для $P = 99,9\%$ $t = 2,39$ [Лакин, 1973].

Результаты статистической обработки полученных данных представлены в табл. 11.

Вторая задача о значимости различия (или сходства) в воздействии различных факторов на конечный результат опытов решается с помощью особых критериев соответствия, называемыми также критериями согласия. Одним из таких критериев, широко используемых в биометрии, является критерий χ^2 , предложенный Пирсоном в 1901 г. При использовании критерия χ^2 для оценки различных состояний одного и того же качественного признака данные группируются в таблицы различной конструкции (табл. 12). Для четырехпольной табл. 12 критерий χ^2 можно вычислить по формуле

$$\chi^2 = \frac{n(ad - bc)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}.$$

Распределение χ^2 непрерывно, поэтому для использования этого критерия для дискретных величин, особенно на малочисленных группах, вводится поправка Йейтса на непрерывность, и формула для вычисления критерия приобретает вид

$$\chi^2 = \frac{\left(|ad - bc| - \frac{n}{2}\right)^2 n}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}.$$

Результаты вычислений критериев χ^2 для распределений влияния на «зеркальный» эффект различных факторов представлены в табл. 13. Полученные нами значения в несколько раз превышают критическое значение $\chi^2 = 10,8$ для 0,1%-го уровня значимости [по Плохинскому, 1970]. Таким образом, можно утверждать, что с вероятностью 99,9% опытные распределения отличаются от всех контрольных. Следовательно, можно признать закономерность появления «зеркального» эффекта лишь при воздействии любого из рассмотренных экстремальных агентов и наличии оптиче-

Таблица 12

Четырехпольная таблица для вычисления критерия χ^2

Пара камер	«Зеркальный» эффект		
	+	-	Сумма
Опытная (экстремальный агент, кварцевая подложка)	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>
Контроль	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>c + d</i>
Сумма	<i>a + c</i>	<i>b + d</i>	<i>n = a + b + c + d</i>

Таблица 13

Результаты вычисления критерия χ^2 при определении отличия опытных и контрольных экспериментов

Условия контроля	Экстремальный агент					
	Вирус Ад-5	Вирус FРV	Вирус Консаки А-13	Суде-ма	УФ-радиация (1 мин)	Конце-мид
Экстремальный агент, стекло простое	53,168	149,244	109,15	126,32	217,83	68,39
Без экстремального агента, кварцевое стекло	45,046	144,9	101,05	142,49	213,75	65,43
Без экстремального агента, стекло простое	45,046	131,71	101,05	124,48	217,83	54,32

Таблица 14

Результаты вычисления критерия χ^2 при определении сходства действия различных экстремальных агентов

Экстремальный агент	Экстремальный агент					
	Вирус FPV	Вирус Ad-5	Вирус Коксаки A-13	Сулема	УФ-ра- диации	Колце- мид
Вирус FPV		0,399	0,098	0,008	0,007	9,8
Вирус Ad-5	0,399		0,030	0,474	0,59	10,59
Вирус Коксаки A-13	0,098	0,030		0,142	0,168	10,48
Сулема	0,008	0,474	0,142		0,00002	14,5
УФ-радиация	0,007	0,59	0,168	0,00002		16,9
Колцемид	9,8	10,59	10,48	14,5	16,9	

ского контакта через кварцевые подложки. Кроме того, очевидно (табл. 14), что вероятность появления цитопатического «зеркального» эффекта даже с достоверностью 95% не зависит от природы экстремального агента, вызывающего гибель клеточного монослоя (так как критическое значение $\chi^2 = 3,8$, а все полученные значения χ^2 намного меньше). При сравнении же воздействия колцемид (модель управляемого клеточного цикла) с воздействием других экстремальных агентов оказывается, что по критерию χ^2 распределения отличаются друг от друга, особенно для большого числа опытов (воздействие сулемы и УФ-радиации отличается от воздействия колцемид с достоверностью 99,9%).

Если вернуться к табл. 11, то можно отметить, что средняя вероятность появления «зеркального» эффекта при действии колцемид ниже, чем вероятность появления «зеркального» эффекта для других экстремальных агентов, вызывающих гибель клеток.

Аналогично можно показать, что при облучении монослоя клеток в камере детектора малой дозой УФ-излучения (15 с) вероятность появления «зеркального» эффекта с достоверностью 99,9% отличается от таковой при заряджении ткани индуктора аденовирусом без облучения детектора ($\chi^2 = 42,23 \gg 10,8$ для уровня значимости 0,01%).

Таким образом, результаты статистической обработки свидетельствуют о том, что «зеркальный» эффект нельзя считать случайной флуктуацией, причем эффективность действия всех экстремальных агентов относительно воспроизведения «зеркального» цитопатического эффекта достоверно не различается. Эффект воздействия экстремального агента, управляющего митотическим циклом, несколько ниже, и хотя доверительные интервалы вероятности перекрываются, по критерию χ^2 можно утверждать, что различия существуют. При предварительном же облучении клеток детектора наблюдается достоверное повышение эффективности дистатных межклеточных взаимодействий.

ДИСТАНТНЫЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ ДВУХ ГЕТЕРОГЕННЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

В данном разделе работы поставлена задача изучить «специфичность» электромагнитного канала связи в гетерогенных клеточных системах. Нами проведены исследования видовой и тканевой специфичности электромагнитного канала связи. Ранее получены экспериментальные данные, подтверждающие информационную роль собственных электромагнитных излучений клетки в гомологичных тканевых культурах, поэтому закономерно возникает вопрос: насколько специфичны электромагнитные сигналы от клеток различного происхождения, и могут ли клетки одной природы воспринять оптические сигналы, испускаемые клетками другой природы.

В качестве критерия работы оптического канала использовано наличие или отсутствие «зеркального» цитопатического эффекта в гомологичных культурах-детекторах при заражении культуры-индуктора тем или иным экстремальным агентом.

Подбор культур тканей, служащих индуктором или детектором, осуществляли исходя из их видового, тканевого и органного происхождения. С этой целью мы сопоставили клетки разных тканей одного вида животного, а также клетки одной ткани, но разных видов, исследовали эффект дистантных межклеточных взаимодействий (ДМВ) в клетках из одного и того же органа, но у различных животных. Кроме того, важно было определить, осуществляется ли передача «зеркального» ЦПЭ внутри злокачественных линий культуры ткани или между злокачественными и доброкачественными тканями.

В исследованиях использованы методы биологического детектирования. В качестве клеток одного вида были выбраны следующие клеточные культуры: первично трипсицизированные фибробласты эмбриона человека (ФЭЧ) и клетки глаза эмбриона человека (ГЭЧ), перевиваемые линии эпителия амниотической оболочки человека (F1 и AMH), перевиваемая линия клеток эмбриона почки человека (RH), перевиваемая культура эпителиальных клеток раковой опухоли шейки матки человека (Hela), перевиваемые клетки карциномы гортани человека (Hep-2).

Межвидовые представители культуры ткани: первично трипсицизированные фибробласты эмбриона человека (ФЭЧ), перевиваемые линии клеток паховых желез обезьяны (ПАО), мышинные фибробласты (L), почечный эпителий эмбриона свиньи (СПЭВ), почка эмбриона человека (RH). Злокачественные линии культур тканей: перевиваемая культура эпителиальных клеток рака шейки матки человека (Hela), перевиваемые клетки раковой опухоли гортани человека (Hep-2).

Культуру-индуктор подвергали либо заражению вирусом курьей чумы (FPV), аденовирусами 5-го и 7-го типов, либо облуче-

нию ультрафиолетом или поражали раствором двухлористой ртути. Детектором служила одна из вышеперечисленных интактных культур ткани, гетерологическая по отношению к зараженной, называемая парой «зеркальной» культурой. Культура-детектор и зараженная культура были полностью разобщены в специально изолированных камерах с автономной для каждой системы клеток питательной средой. Между указанными культурами поддерживался только оптический контакт через кварцевые стекла или слюдяные подложки, на которых росли клетки исследуемой культуры ткани. После того как на подложке образовался монослой клеток, в одну из камер вносился указанный агент, другая оставалась интактной. Затем камеры монтировались попарно, зараженная с незараженной, и помещались в термостат. Через несколько суток камеры вынимались, демонтировались, стекла-подложки с выросшими на них клетками фиксировали, окрашивали и подвергали морфологическому анализу. Фиксацию проводили метиловым спиртом или 10%-ным формалином, окрашивали по Романовскому и гематоксилин-эозин.

Все исследования сопровождалось соответствующими контролями на выявление спонтанной дегенерации в незараженной культуре, на выявление вируса из зараженной и «зеркальной» камер при 3-кратном пассаже культуральной жидкости и получением «зеркального» ЦПД при исследовании гомологичных культур.

В серии опытов с гетерогенными клеточными культурами тканей (ФЭЧ и КЭ) рассмотрены две модификации, при которых детектором последовательно являлась каждая из указанных культур. Поражающим агентом был вирус классической чумы птиц (FPV). Исследовано 45 пар камер, где ткань КЭ заражалась FPV, а ткань ФЭЧ служила детектором. Во всех случаях положительный «зеркальный» эффект не наблюдался. При заражении ФЭЧ 40 пар камер, где детектором была КЭ, положительный «зеркальный» эффект также отсутствовал. При проведении этой серии экспериментов в качестве контроля служили гомологичные парные ткани КЭ—КЭ и ФЭЧ—ФЭЧ, одна из которых в указанных парах была заражена тем же вирусом (табл. 15). Отмечается преобладание положительного «зеркального» эффекта в парах КЭ—КЭ: 31 пара из 45. В системе ФЭЧ—ФЭЧ положительный эффект не получен, поскольку, как известно, эта культура ткани не поражается данным вирусом. Второй серией контроля были работы, направленные на установление наличия спонтанной дегенерации в культурах ФЭЧ—КЭ, соединенных попарно. На 27 парах камер показано отсутствие спонтанной дегенерации.

Последующие эксперименты послужили продолжением вышеописанного, по отличались от него расширением круга гетерогенных тканей и использованием аденовируса 5-го типа в качестве экстремального агента, исследовались *Herp-2*, ПАО; *Herp-2-PeLa*; *Herp-2*—СПЭВ; *Hela* — ПАО и др. Методика постановки эксперимента та же, а результаты представлены на табл. 16—30. Как

Таблица 15

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах КЭ —
ФЭЧ с вирусом *FPV*

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{КЭ}}{\text{ФЭЧ}}$	<i>FPV</i>	45	—
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{КЭ}}$	<i>FPV</i>	45	—
$\frac{\text{КЭ}}{\text{КЭ}}$	<i>FPV</i>	45	33
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{ФЭЧ}}$	<i>FPV</i>	21	—
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{КЭ}}$	—	25	—

Таблица 16

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах *Нер-2*—
СПЭВ с *Ad-5*

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{СПЭВ}}$	<i>Ad-5</i>	46	2
$\frac{\text{СПЭВ}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	44	—
$\frac{\text{СПЭВ}}{\text{СПЭВ}}$	<i>Ad-5</i>	80	63
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	60	42
$\frac{\text{СПЭВ}}{\text{Нер-2}}$	—	50	—

показано в таблицах, «зеркальный» ЦПЭ для гомологичных тка-ней наблюдается, как правило, в большинстве пар камер (80—70%), в то время как для гетерогенных он либо отсутствовал, либо колебался (в случае *Нер-2* — *Нела* от 23 до 30%, в почечных ли-ниях *РН* — СПЭВ от 12 до 14%, в камерах, где взяты почечная ткань и злокачественная, от 6 до 14%).

Таблица 17

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах *Нер-2*—
ПАО с *Ad-5*

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{ПАО}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	54	—
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{ПАО}}$	<i>Ad-5</i>	46	—
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	60	42
$\frac{\text{ПАО}}{\text{ПАО}}$	<i>Ad-5</i>	40	25
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{ПАО}}$	—	25	—

Таблица 18

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах *Нер-2*—
Нела

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{Нела}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	50	15
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нела}}$	<i>Ad-5</i>	60	14
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нер-2}}$	<i>Ad-5</i>	60	42
$\frac{\text{Нела}}{\text{Нела}}$	<i>Ad-5</i>	50	34
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нела}}$	—	43	—

Таблица 19

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах Fl—
Нер-2 с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Fl}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{Fl}}{\text{Нер-2}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нер-2}}$	Ad-5	60	42
$\frac{\text{Fl}}{\text{Fl}}$	Ad-5	60	42
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Fl}}$	—	30	—

Таблица 20

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах Fl—
ПАО с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{ПАО}}{\text{Fl}}$	Ad-5	30	—
$\frac{\text{Fl}}{\text{ПАО}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{Fl}}{\text{Fl}}$	Ad-5	60	42
$\frac{\text{ПАО}}{\text{ПАО}}$	Ad-5	40	25
$\frac{\text{ПАО}}{\text{Fl}}$	—	25	—

В следующей серии экспериментов определялась возможность возникновения «зеркального» ЦПЭ в системах гетерогенных культур клеток: АМН, RH, ГЭЧ и Нер-2. Поражающим агентом служил раствор сулемы в концентрации 5 мкг/мл или ультрафиолетовое облучение. В каждом эксперименте рассмотрены две модификации, при которых каждая из культур последовательно использовалась сначала в качестве детектора, затем в качестве индукто-

Таблица 21

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах L—
ФЭЧ с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{L}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{L}}{\text{ФЭЧ}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{L}}{\text{L}}$	Ad-5	40	27
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{ФЭЧ}}$	Ad-5	30	22
$\frac{\text{L}}{\text{ФЭЧ}}$	—	30	—

Таблица 22

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах L—
Нер-2 с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{L}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{L}}{\text{Нер-2}}$	Ad-5	50	—
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{Нер-2}}$	Ad-5	60	42
$\frac{\text{L}}{\text{L}}$	Ad-5	40	27
$\frac{\text{Нер-2}}{\text{L}}$	Ad-5	30	—

Таблица 23

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах СПЭВ—
РН с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{RH}{СПЭВ}$	<i>Ad-5</i>	50	7
$\frac{СПЭВ}{RH}$	<i>Ad-5</i>	50	6
$\frac{СПЭВ}{СПЭВ}$	<i>Ad-5</i>	80	63
$\frac{RH}{RH}$	<i>Ad-5</i>	60	25
$\frac{СПЭВ}{RH}$	—	50	—

ра. Контролем служили гомологичные пары ГЭЧ—ГЭЧ, АМН—АМН, *РН—РН*, *Нер-2—Нер-2*, в которых одна из культур была поражена сулемой или УФ-облучением.

Отмечается высокий процент положительного «зеркального» ЦПЭ в парах АМН—АМН (60) и ГЭЧ—ГЭЧ (70). Ни в одной из гетерогенных пар АМН—ГЭЧ положительный «зеркальный» ЦПЭ не наблюдался. Как и ранее, обнаружено наличие дистант-

Таблица 25

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах *Hela* —
РН с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{Hela}{RH}$	<i>Ad-5</i>	50	3
$\frac{RH}{Hela}$	<i>Ad-5</i>	50	3
$\frac{Hela}{Hela}$	<i>Ad-5</i>	50	34
$\frac{RH}{RH}$	<i>Ad-5</i>	60	45
$\frac{RH}{Hela}$	—	50	—

Таблица 24

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах *Нер-2*—
РН с Ad-5

Детектор индуктор	Вирус	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{Нер-2}{RH}$	<i>Ad-5</i>	50	8
$\frac{RH}{Нер-2}$	<i>Ad-5</i>	50	7
$\frac{Нер-2}{Нер-2}$	<i>Ad-5</i>	60	42
$\frac{RH}{RH}$	<i>Ad-5</i>	60	45
$\frac{Нер-2}{RH}$	—	50	—

Таблица 26

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах АМН —
ГЭЧ с сулемой

Детектор индуктор	Экстремальный агент	Число пар камер	
		всего	с «зер- кальным» ЦПЭ
$\frac{АМН}{ГЭЧ}$	Сулема	12	—
$\frac{ГЭЧ}{АМН}$	»	11	—
$\frac{АМН}{АМН}$	»	50	35
$\frac{ГЭЧ}{ГЭЧ}$	»	50	30
$\frac{АМН}{ГЭЧ}$	—	50	—

Таблица 27

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах ГЭЧ —
РН с сулемой

Детектор индуктор	Экстремальный агент	Число пар камер	
		всего	с «зеркальным» ЦПЭ
$\frac{\text{ГЭЧ}}{\text{РН}}$	Сулема	13	—
$\frac{\text{РН}}{\text{ГЭЧ}}$	»	20	—
$\frac{\text{РН}}{\text{РН}}$	»	50	38
$\frac{\text{ГЭЧ}}{\text{ГЭЧ}}$	»	50	30
$\frac{\text{РН}}{\text{ГЭЧ}}$	—	50	—

Таблица 28

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах МК —
ФЭЧ с сулемой

Детектор индуктор	Экстремальный агент	Число пар камер	
		всего	с «зеркальным» ЦПЭ
$\frac{\text{МК}}{\text{ФЭЧ}}$	Сулема	15	—
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{МК}}$	»	15	—
$\frac{\text{МК}}{\text{МК}}$	»	50	38
$\frac{\text{ФЭЧ}}{\text{ФЭЧ}}$	»	50	37
$\frac{\text{МК}}{\text{ФЭЧ}}$	—	50	—

ных взаимодействий между эпителиальной почечной линией РН и злокачественной культурой клеток Пер-2 (18%).

Различные тканевые культуры классифицированы и оценены силой связи друг с другом относительно возможности реализации межклеточных дистантных взаимодействий (табл. 31).

Таблица 29

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах МК —
СПЭВ с сулемой

Детектор индуктор	Экстремальный агент	Число пар камер	
		всего	с «зеркальным» ЦПЭ
$\frac{\text{МК}}{\text{СПЭВ}}$	Сулема	15	5
$\frac{\text{СПЭВ}}{\text{МК}}$	»	10	3
$\frac{\text{МК}}{\text{МК}}$	»	50	38
$\frac{\text{СПЭВ}}{\text{СПЭВ}}$	»	50	40
$\frac{\text{МК}}{\text{СПЭВ}}$	—	40	—

Таблица 30

«Зеркальный» ЦПЭ в клеточных
гетерогенных системах МК —
Пер-2 при облучении УФ

Детектор индуктор	Экстремальный агент	Число пар камер	
		всего	с «зеркальным» ЦПЭ
$\frac{\text{МК}}{\text{Пер-2}}$	УФ	10	2
$\frac{\text{Пер-2}}{\text{МК}}$	»	10	4
$\frac{\text{Пер-2}}{\text{Пер-2}}$	»	50	35
$\frac{\text{МК}}{\text{МК}}$	»	50	38
$\frac{\text{МК}}{\text{Пер-2}}$	—	50	—

Реализация дистантных межклеточных взаимодействий в клеточных гетерогенных системах (сводная таблица проявления «зеркального» ЦПЭ), %

Культура-индуктор	Культура-детектор											
	ФЭЧ	КЭ	Нер-2	HeLa	ПАО	СПЭВ	L	Fl	RH	AMH	ГЭЧ	МК
ФЭЧ	73	0	0	0	0	0	0					0
КЭ	0	73										
Нер-2			70	30	0	0	0	0	14			20
HeLa	0	0	23	70	0				6			
ПАО			0		63			0				
СПЭВ			4			81			14			33
L	0		0				68					
Fl			0	0	0			70				
RH	0		16	6		12			75	0	0	
AMH									0	70	0	
ГЭЧ									0	0	60	
МК	0		40			33						76

Ряд клеток этой матрицы не заполнен, так как эксперименты продолжаются. По мере заполнения матрицы удастся описать более полно биологические специфические характеристики дистантного канала межклеточных взаимодействий.

Анализируя полученные данные, считаем, что клетки гомологичных тканей способны к воспроизведению с высоким процентом положительного «зеркального» ЦПЭ (62—83), а в гетерогенных клеточных культурах мы получили самые различные результаты. В перевиваемых злокачественных линиях *Нер-2*, *HeLa* в 23—30% мы получили «зеркальный» ЦПЭ, наличие канала связи, видимо, можно отнести за счет того, что обе ткани злокачественной природы от одного вида (человека). Там же обнаружено наличие связи между двумя эпителиальными почечными линиями (от 12 до 14%) и между перевиваемыми линиями почки и злокачественными линиями (6—12%).

В серии исследований на клетках различных культур ткани показано, что ранее описанное дистантное электромагнитное межклеточное взаимодействие биологически специфично и реализуется

только в генетически близкородственных линиях клеток. По мере нарастания гетерогенности линий эффект взаимодействия исчезает.



Таким образом, на основании изложенных экспериментальных данных мы можем высказать предположение о природе описанной формы межклеточной связи. Нами показано, что тканевые культуры, разобщенные двойным слоем кварцевых или слюдяных подложек, ведут себя как единая система: если одна из культур поражается, например, вирусной инфекцией или УФ-радиацией, то вторая, казалось бы совершенно здоровая и независимая, через некоторое время воспроизводит изменения, которые наблюдаются в первой культуре.

Изменения в незараженной «зеркальной» культуре-детекторе специфичны: клетки детектора в значительной мере копируют весь цикл превращений, происходящих в клетках культуры-индуктора. Однако такие морфологические признаки, как вирусные включения, в «зеркальной» культуре никогда не обнаруживались. Именно поэтому мы говорим о «чертах сходства и различиях» культуры индуктора и детектора.

Дистантные межклеточные взаимодействия характеризуются строгой специфичностью сигнала и ответа на него, это подтверждается спецификой картин «зеркального» эффекта по отношению к соответствующему экстремальному агенту и тем, что «зеркальный» эффект реализуется в гомологичных клеточных линиях, используемых в качестве индуктора и детектора, и отсутствует в гетерогенных культурах, генетически отдаленных друг от друга.

Г л а в а IV

ЭЛЕКТРОМАГНИТНАЯ ПРИРОДА ДИСТАНТНЫХ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Как показали результаты проведенных нами исследований по дистантным межклеточным взаимодействиям, взаимодействие клеток в двух клеточных системах, по-видимому, не осуществляется химическим путем через питательную среду, так как все камеры как с положительными, так и с отрицательными эффектами были стерильны, т. е. возможность заражения или какая-либо биохимическая связь по условиям опыта полностью исключается. Как уже говорилось, «зеркальный» ЦПЭ наблюдал-

ся в случае применения в качестве подложки кварцевых или слюдяных пластинок. Стеклопленочные подложки не эффективны. Отсюда следует, что носителем сигнала при взаимодействии двух клеточных систем могут быть излучения УФ- или ИК-диапазона, так как кварц прозрачен и по отношению к ИК-излучению [Козелкин, Усольцев, 1967]. Такая точка зрения подтверждается следующими фактами.

Были проведены исследования как в полной темноте, так и при освещении. Полученные данные свидетельствуют о том, что при освещении культур даже рассеянным дневным или электрическим светом эффект взаимодействия не проявляется. Измерения, произведенные с помощью ФЭУ-42, показали, что клетки, предварительно находившиеся на свету (в отличие от клеток, находящихся в темном термостате), длительное время (более часа) интенсивно высвечивают в видимой области спектра. Этот всплеск индуцированного светом излучения может рассматриваться как шум относительно собственного слабого сигнала.

В исследованиях с применением металлической фольги или черного фильтра между камерами получен отрицательный результат, т. е. отсутствие «зеркального» эффекта.

Взаимодействие осуществляется на достаточно большом расстоянии, разделяющем две культуры друг от друга. По мере разнесения культур, а также при постоянном утолщении кварцевых и слюдяных подложек эффективность дистантного взаимодействия клеток падает, это можно объяснить поглощением электромагнитного излучения оптической средой, расположенной между двумя культурами, и малой интенсивностью излучения, испускаемого клетками.

Выясняя механизм дистантных межклеточных взаимодействий в системе двух клеточных культур, мы провели исследования зависимости проявления «зеркального» ЦПЭ от количества клеток в монослое детектора и индуктора и дозы экстремального агента, вызывающего поражение клеток в культуре-индукторе. Излучательный характер связи между клетками подтверждается зависимостью «зеркального» эффекта от соотношения клеток «источников» и «приемников» излучения.

Исследования проводились в несколько этапов. В первом случае исследовалась зависимость проявления «зеркального» эффекта от соотношения «биомасса индуктора» — «биомасса детектора». Под словом «биомасса» мы подразумеваем количество клеток в монослое, взятых в эксперименте.

Для эффективного роста различных клеточных культур концентрация засеваемых клеток различна и зависит от потенции размножения данной линии клеток. Концентрация клеток в засеваемой суспензии определяет жизнеспособность, деление и рост клеток при искусственном культивировании. Если концентрация мала, то клетки погибают, так как для их жизни вне организма необходимо некоторое количество питательных и стимулирующих

веществ, выработка которых может быть обеспечена только клеточным комплексом [Ибсерт, 1968].

Существенной чертой взаимодействия клеток в культурах является подавление подвижности и митотической активности клеток при достижении определенной плотности популяции [Робертис, 1973]. Торможение размножения после образования монослоя связано с клеточными контактами (контактное торможение).

В результате торможения подвижности и установления прочных контактов между клетками монослой превращается в единую систему, где состояние каждой отдельной клетки достаточно стабильно [Васильев, 1965].

Факторы, регулирующие рост, передаются через клетки, а не через среду: высокая проницаемость между клетками превращает весь пласт в функционально единый комплекс, в котором свойства отдельных клеток усредняются. Поэтому функциональное объединение очень резко стабилизирует условия существования клеток. Если в такой единой системе появляются, например, отдельные мутантные клетки с резко измененным метаболизмом, то из-за усреднения в пласте эти свойства могут не проявиться [Залкинд, 1953].

Исследования проводили на монослой с различным количеством клеток в нем (так называемый плотный и разреженный монослой) и в культурах ткани ПАО (клетки паховой железы обезьяны) и *Fl* (клетки амниона).

Клеточную культуру выращивали в камерах, где в качестве подложки применяли кварцевые стекла. Питательная среда состояла из среды 199 с добавлением в нее 10% бычьей сыворотки.

Для получения однослойной клеточной культуры использовали минимальную концентрацию засеваемой суспензии ($5 \cdot 10^4$ — $6 \cdot 10^4$ клеток на 1 мл инкубационной среды), при которой происходит формирование жизнеспособного клеточного монослоя —

Т а б л и ц а 32

Плотность роста монослоя (S_p) в клеточных культурах при различных количествах засеваемых клеток

Концентрация клеток, тыс./мл	Площадь клеточного монослоя, %	
	<i>Fl</i>	ПАО
50	24±3,14	42±3,28
60	46±1,2	56,4±5,52
70	64±6,3	80±5,44
80	88±2,0	98±2,1
100	96±3,4	100
120	100	—

так называемого разреженного монослоя, где клетки образуют отдельные группы по 3—10 шт. Для образования так называемого плотного монослоя использовали максимальную концентрацию клеток ($8 \cdot 10^4$ — $1,2 \cdot 10^5$ клеток на 1 мл инкубационной среды), дающую сплошной монослой, в котором каждая клетка со всех сторон окружена другими и образует с ними прочные контакты.

Для определения плотности монослоя любой из указанных клеточных линий проведена серия посадок взвеси с опре-

деленной концентрацией клеток на покровные стекла (табл. 32).

Формирование жизнеспособного монослоя в клеточной культуре ПАО наблюдается при концентрации 50 тыс./мл (42% площади препарата занято клетками), а для культуры клеток *Fl* — 60 тыс./мл (46% площади занято клетками). С увеличением концентрации клеток происходит зарастание всей площади подложки.

Максимальная концентрация клеток, образующая плотный монослой (100% площади препарата занято клетками): для ПАО — 100 тыс./мл, для *Fl* — 120 тыс./мл. При дальнейшем увеличении пороговой концентрации наблюдается образование сплошного слоя клеток с многослойными участками.

Изучая зависимость проявления «зеркального» ЦПО от количества клеток в монослое, одну из клеточных культур с плотным или разреженным монослоем (в зависимости от условия опыта) подвергали воздействию экстремального агента, другая служила детектором излучения, отражающего цитопатические изменения, возникающие в пораженных клетках — «зеркальная» культура. Экстремальным агентом применяли двухлористую ртуть в концентрации 5 мкг/мл и ультрафиолетовое облучение (экспозиция 40—45 с; лампа БУВ-30, расстояние 0,5 м).

Токсическая доза сулемы вследствие блокады дыхательных ферментов приводит к гибели клеток культуры ткани. Развивается цитопатический эффект, который выражается в дезинтеграции монослоя, зернистой и вакуольной дистрофии клеток и кариопикнозе. Процесс завершается гибелью всего монослоя.

При действии сублетальной дозы УФ-облучения (40—45 с) гибель или выживание клеток обнаруживается не сразу, а в отдаленные от облучения сроки. Прежде чем погибнуть, клетки успевают несколько раз разделиться, затем длительное время не делятся и, наконец, погибают [Самойлова, 1967]. Цитопатический эффект в данном случае выражается в дисконфлексации клеточного пласта, наличии пикнотических изменений и дегенерировавших клеток.

Исследования сопровождалось несколькими контролями.

1. Контроль на наличие «зеркального» цитопатического эффекта при оптимальных условиях: концентрация засеваемой суспензии для образования монослоя-индуктора и монослоя-детектора равнялась 80 тыс. клеток в 1 мл питательной среды.

2. Контроль на выявление спонтанной дегенерации в клеточных культурах; незараженные клеточные культуры с разреженным и плотным монослоем монтировали попарно и помещали в термостат вместе с опытными, через 48 ч стекла-подложки окрашивали и просматривали на наличие неспецифической спонтанной дегенерации.

3. Кроме того, проводился контроль условий опыта, когда вместо кварцевой подложки использовали простое стекло.

Наличие «зеркального» цитопатического эффекта определяли по отношению числа погибших клеток к числу всех клеток и по

Таблица 33

Проявление феномена ДМВ между клеточной культурой-индуктором с разреженным монослоем, пораженным экстремальным агентом, и культурой-детектором с плотным монослоем

Экстремальный агент	Число поставленных опытов		
	всего	с «зеркальным» ЦПЭ	без «зеркального» ЦПЭ
УФ-облучение	54	5	4
Сулема	56	14	42
Без экстремального агента	56	0	56

типу морфологических изменений после двухсуточного оптического контакта культур.

Для исследования проявления «зеркального» цитопатического эффекта в системе двух тканевых культур в зависимости от количества клеток в монослое проведено две серии экспериментов, в которых определена эффективность проявления «зеркального» цитопатического эффекта при использовании в качестве индуктора клеточной культуры с разреженным монослоем, а в качестве детектора — культуры с плотным монослоем (табл. 33).

Исследована степень проявления «зеркального» ЦПЭ при использовании в качестве индуктора культуры с плотным монослоем. Детектором излучения в данном случае служила незараженная культура с разреженным монослоем (табл. 34).

В первом случае (см. табл. 33) клеточная культура с разреженным монослоем, зараженная экстремальным агентом, являлась источником излучения, детектором этого излучения служила интактная гомологичная культура с плотным монослоем. В клетках такой культуры, имеющей с пораженной культурой оптический контакт, «зеркальный» цитопатический эффект наблюдали

Таблица 34

Проявление феномена ДМВ между клеточной культурой-индуктором с плотным монослоем, пораженным экстремальным агентом, и культурой-детектором с разреженным монослоем

Экстремальный агент	Число поставленных опытов		
	всего	с «зеркальным» ЦПЭ	без «зеркального» ЦПЭ
УФ-облучение	54	29	25
Сулема	57	32	25
Без экстремального агента	56	0	56

в 17% случаев (из 110 поставленных экспериментов — в 19).

Во втором случае (см. табл. 34) при оптическом контакте клеточной культуры с плотным монослоем, пораженной экстремальным агентом и интактной гомологичной культурой-детектором с разреженным монослоем, в последней развивается «зеркальный» ЦПЭ в 55% случаев (из 110 поставленных экспериментов «зеркальный» ЦПЭ наблюдали в 61 эксперименте).

При проведении контроля на наличие «зеркального» ЦПЭ при оптимальных условиях (монослой-индуктор и монослой-детектор одинаковы) «зеркальный» ЦПЭ наблюдается в 72—80% случаев.

Проведенные эксперименты показали, что в развитии «зеркального» цитопатического эффекта большую роль играет количество пораженных клеток, испускающих излучение, и количество клеток, воспринимающих это излучение: чем больше пораженных клеток, испускающих излучение, тем эффективней воспроизводится «зеркальный» ЦПЭ. По-видимому, для развития «зеркального» ЦПЭ необходима некоторая пороговая интенсивность излучения.

«Зеркальная» культура с разреженным монослоем менее устойчива к излучению от первично пораженных клеток, так как в ней клетки монослоя разобщены между собой, а в удельном отношении на каждую клетку такой культуры приходится большая доза излучения.

Клеточная «зеркальная» культура с плотным монослоем, в котором клетки образуют прочные контакты, ведет себя как единая система, где состояние каждой клетки и монослоя более устойчиво. Данная клеточная культура представляет собой функционально единый комплекс, в котором свойства отдельных клеток усредняются. Отсюда ее устойчивость относительно любого воздействия индуктора.

Ранее нами показано, что при внесении в культуру ткани патогенного вируса в культуру, находящейся с первой только в оптическом контакте, развивается «зеркальный» цитопатический эффект, характерный для ЦПЭ, обусловленного соответствующим вирусом.

Исследуя зависимость проявления «зеркального» ЦПЭ от различной дозы вируса, мы использовали первично трипсицизированные клетки куриного эмбриона и вирус классической чумы птиц в титре от 10^{-1} до 10^{-6} и аденовирус 5-го типа в тех же титрах на перевиваемой линии клеток *Herp-2* и первично трипсицизированных клетках человеческого эмбриона. Вирус вносился в камеры с вырощенной суточной культурой клеток в определенном заданном титре. После этого зараженные камеры соединялись попарно с незараженными и помещались в термостат при температуре $37,2^{\circ}$ на 2—3 сут. Через 2 сут камеры демонтировали, стекла-подложки после фиксации и окрашивания выращенных клеток подвергали морфологическому исследованию.

Все исследования с различными титрами указанных вирусов сопровождалось контрольными экспериментами: параллельно

Зависимость проявления «зеркального» ЦПЭ от титра вируса, взятого в эксперименте, %

Вид ткани	Вирус	Титр вируса					
		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
КЭ	FPV	0	10—20	70	70	40—50	20
Нер-2	Ad-5	0	20	73	70	30	20

Примечание. Всего проведено по 100 экспериментов с каждым титром вируса.

с опытными парами камер, одна из которых заражена вирусом, в термостат помещались пары камер, не зараженные вирусом (для выявления спонтанной дегенерации). Проводилось пассирование культуральной жидкости из зараженных и незараженных камер: вирус выделялся только из зараженных камер, в незараженных камерах, как в «зеркальных», так и в контрольных, в трех последовательных пассажах вирус не обнаруживался.

При постановке реакции гемагглютинации (FPV) с культуральной жидкостью из зараженной камеры гемагглютинины обнаружены в титре 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160. Культуральная жидкость из незараженных «зеркальных» камер положительной реакции гемагглютинации не давала, что свидетельствует об отсутствии вируса.

В первой серии опытов с вирусами классической чумы птиц и тканью КЭ после внесения вируса в титре 10^{-1} наступал ранний цитопатический эффект, который наблюдается при массивной инфекции в чувствительных клетках, ЦПЭ развивается через 8—12 ч, «зеркальный» ЦПЭ при этом не успевает проявиться. В силу этих же причин при исследовании с титром 10^{-2} положительный «зеркальный» ЦПЭ получен в 20 % случаев. При внесении вируса в титре 10^{-3} и 10^{-4} , когда ЦПЭ развивался в течение 2—3 сут, «зеркальный» ЦПЭ наблюдался в 70 % и более случаев. При исследованиях с титром вируса 10^{-5} и 10^{-6} ЦПЭ не всегда проявляется в зараженной камере, и в зависимости от этого падает и процент проявления феномена ДМВ. Такая же картина наблюдается при исследованиях с аденовирусом 5-го типа на тканях ФЭЧ и Нер-2 (табл. 35).

Нами получена определенная корреляция между дозой вируса, взятого в эксперимент, степенью выраженности вирусного ЦПЭ и частотой положительного «зеркального» эффекта. Установлено, что максимальный процент положительного «зеркального» цитопатического эффекта в опытах с вирусом куриной чумы птиц и аденовируса 5-го типа получен при внесении вируса в культуру ткани в титре 10^{-3} и 10^{-4} . Эта концентрация вируса оптимальна для изучения дистаптных межклеточных взаимодействий, осуществляемых в системе клетка — клетка. При заражении клеточной культуры низким титром вируса (титр 10^{-4} — 10^{-6}) вирусное

ЦПЭ проявляется не во всех камерах индуктора, и в то же время в камерах с проявившимся ЦПЭ не все клетки поражены вирусом, в этом случае мы имеем или отрицательный результат, или слабо положительный «зеркальный» ЦПЭ. При заражении массивными дозами вируса клеток индуктора клеточный монослой очень быстро погибает: здесь играет роль и токсический эффект вируса; при этом излучение индуктора, на наш взгляд, не успевает сформировать «зеркальный» ЦПЭ в клетках детектора, поэтому при заражении камеры индуктора вирусом в титре 10^{-1} и 10^{-2} излучение клеток (или часть его) может быть неспецифическим (типа «некробиотических» или «деградационных» лучей). Этим можно объяснить то, что при использовании вируса в титре 10^{-1} нами получен отрицательный результат, а в титре 10^{-2} — очень низкий процент проявления «зеркального» ЦПЭ (10—20). Это еще раз свидетельствует о том, что при оптимальной дозе экстремального агента проявление «зеркального» ЦПЭ есть результат длительного и сложного дистантного действия излучения пораженных клеток индуктора на клетки детектора и в описываемом явлении электромагнитного взаимодействия клеток излучению нельзя приписать роль «пускового» или энергетического фактора, так как по меньшей мере сомнительно существование преформированной генетической программы поражения клеток различными внешними воздействиями: вирусом, токсическими факторами, УФ-радиацией и т. д.

Для проявления «зеркального» эффекта требуется достаточно длительный период контакта культур детектора и индуктора, причем длительность зависит от природы экстремального агента. Например, для вируса классической чумы птиц *FPV* — не менее 4 ч, а для вируса Коксаки А-13 — не менее 6 ч. Это свидетельствует о том, что электромагнитное излучение культуры индуктора оказывает длительное специфическое воздействие, организуя и контролируя процесс «зеркального» поражения клеток культуры детектора.

Зависимость проявления «зеркального» эффекта от дозы экстремального агента и соотношения «биомассы» индуктора и детектора позволяет представить два клеточных монослоя (с автономным жизнеобеспечением, но имеющих оптический контакт через слюдяные или кварцевые «окошки») как взаимодействующие системы источников электромагнитного излучения (культура-индуктор) и приемников его (культура-детектор).

Использование биологического детектора излучения клеток позволяет решать вопросы о биологической эффективности, специфичности, универсальности изучаемого явления дистантных межклеточных взаимодействий. Для количественного исследования феномена, т. е. для того чтобы определить, хотя бы приблизительно, интенсивность и спектральный состав излучения, необходимо применение физических способов обнаружения излучения биосистем.

Еще в 30-х годах нашего столетия В. Лешешкин [Lepeschkin, 1933] сообщил о том, что им обнаружено очень слабое излучение в области ультрафиолета, которое он открыл, применяя специальные фотопластики с низким содержанием желатина (пластинки Шумана). Наблюдая засветку и потемнение фотоматериалов, он обнаружил, что отмирание клеток приводит к высвобождению энергии, запасенной в биологических структурах, в виде излучения в ультрафиолетовой области.

Наличие подобного свечения подтверждено в опытах с отмирающими тканями печени, мышц, нервов в работе М. Ситко [Журавлев, 1965].

Регистрация излучения с помощью фотографической пластинки связана с некоторыми неудобствами получения количественных результатов измерения, обусловленными нелинейной зависимостью числа проявленных зерен от освещенности фотопластинки и необходимостью использования дополнительной аппаратуры для измерения степени почернения последней.

Принцип действия фотоэлектрических детекторов основан на фотоэффекте. В видимой и ультрафиолетовой областях спектра в основном применяются детекторы с внешним фотоэффектом: фотоэлементы, фотоэлектронные умножители, газонаполненные фотоэлементы (счетчики фотонов); реже — детекторы с внутренним фотоэффектом: полупроводниковые фото и фотопараметрические диоды.

Фотоэлектрические детекторы позволяют непосредственно измерять интенсивность светового потока и дают возможность автоматизировать процесс измерения.

Использование фотоэлементов для регистрации сверхслабых световых потоков связано с необходимостью применения электронного усилителя с большим коэффициентом усиления. В этом случае шумы нагрузочного сопротивления ограничивают пороговое значение измеряемого светового потока, так как они усиливаются электронным усилителем с большим коэффициентом усиления.

Первые удачные попытки обнаружения излучения клеток методом фотоэлектрического эффекта предприняты В. Раевским [Raiewsky, 1931], который применил видоизмененный счетчик Гейгера — Мюллера [Fischer, 1979]. На основании своих результатов В. Раевский оценивает интенсивность излучения биообъектов (корешки лука, карцинома мыши) приблизительно в 10^{-10} — 10^{-9} эрг/см²·с, что соответствует 100—200 квантам. Тогда же, используя аналогичный аппарат, Г. М. Франк и С. Ф. Родионов регистрировали до 10^3 квантов электромагнитного излучения биообъектов. В то же время Г. Бартом (1937) и М. В. Филипповым (1937) в ряде случаев получен отрицательный эффект. И все же, применяя счетчики фотонов высокой чувствительности, исследователям удалось обнаружить очень слабое излучение биосистем [Addubert, 1939; Свешников, 1955; Хайкин, Абаулин, 1955].

В 1961 г. Н. А. Троицким, С. В. Коневым, М. А. Катибниковым зарегистрировано излучение (в УФ-области спектра) целого ряда биологических объектов с помощью счетной ионизационной трубки типа гейгеровской, снабженной окошком из оптического кварца и платиновым фотокатодом, при этом интенсивность излучения объекта на 20—60 % превышала уровень шума.

Газонаполненные фотоэлементы (счетчики фотонов) по принципу действия ничем не отличаются от счетчиков Гейгера. Основным недостатком детекторов подобного типа является пизкая помехозащищенность от разрядов, обусловленных действием космических лучей и других ионизирующих излучений, а также саморазрядка в результате термоэлектронной эмиссии катода. Кроме того, они мало стабильны.

Реальная возможность измерения очень слабых световых потоков стала возможной только с появлением фотоумножителей, изобретенных у нас Н. А. Кубецким, которые с течением времени достигли достаточно высокого совершенства [Чечик и др., 1957; и др.]. Усиление фототока благодаря вторичной эмиссии и наличие обычно не менее десяти каскадов усиления дают возможность достигнуть порога чувствительности до 10^{-13} — 10^{-14} лм. Кроме того, они пригодны для измерения быстропротекающих процессов. Шумы нагрузочного сопротивления несущественны, поскольку усиление сигнала происходит внутри самого приемника. Коэффициент усиления ФЭУ достигает величины 10^6 — 10^7 .

В подавляющем числе современных конструкций ФЭУ применяют полупрозрачные катоды, напыленные на внутреннюю торцевую сторону цилиндрического стеклянного баллона. Существует несколько типов фотокатодов с различной спектральной чувствительностью, например: сурьмяно-цезиевый катод (спектральная чувствительность $200 \div 630$ нм; макс 250 мк; квантовый выход 20 %, чувствительность 30—100 мк/лм); катод покрыт висмут-кислород-сурьмяно-цезием; его спектральная чувствительность $300 \div 730$ нм; квантовый выход гораздо ниже; чувствительность фотоэлемента 10—60 мк/лм; цезиевый катод, квантовый выход которого имеет самое низкое значение, спектральная чувствительность $350 \div 1200$ нм, чувствительность фотоэлемента 10—60 мк/лм и др.

Одним из факторов, отрицательно влияющих на регистрацию сверхслабых световых потоков, является наличие у ФЭУ темнового тока, основной вклад в который вносит термоэмиссия катода, поэтому для снижения этого тока применяют специальные системы охлаждения. Однако при работе с живыми объектами охлаждение не всегда целесообразно, поэтому часто применяют различные автоматические устройства типа реверсивных счетчиков, вычитающие средний уровень «шума» из суммы «сигнал + шум», или используют преимущественно ФЭУ с низким уровнем шумов.

Электромагнитное излучение, сопровождающее метаболические процессы в норме и патологии, происходящие в живой клет-

ке, имеет чрезвычайно малую интенсивность — от 10 до 1000 квантов — и задача его надежной, объективной регистрации, выделение полезного сигнала из массы случайных явлений, с технической точки зрения весьма сложна, но разрешима.

В ряде работ [Баренбойм, Доманский, 1969; Тарусов, Доскоч, 1971; Туроверов, Мамедов, 1971; и др.] исследовалось влияние различных факторов на характер сверхслабого излучения растительных и животных клеток. Опыты показали, что характер изменения объектов после воздействия различных факторов оказался более или менее однообразным, и его можно свести к трем формам кинетических кривых, которые приведены в работах Мамедова (1970).

Наиболее часто, сразу после воздействия на клетку, наблюдается резкое увеличение интенсивности излучения до максимума и сравнительно медленное снижение. Высота пика и скорость спада кривой зависят от характера раздражителя и дозы. Такие изменения вызывают большинство использованных физических факторов, наркотики, детергенты, органические растворители и другие повреждающие агенты.

Вторая форма проявления световой реакции клетки на раздражение характеризуется медленным нарастанием интенсивности, а затем медленным снижением ее. К этой группе факторов относятся низкомолекулярные сахара, некоторые красители и осмотическое давление.

И наконец, третья форма световой реакции характеризуется снижением свечения биообъекта. Таким действием обладают соли тяжелых металлов, метаболические ингибиторы и яды, антиоксиданты и некоторые другие вещества [Мамедов, 1970].

При исследовании хемилюминесценции озимых злаков, зараженных вирусом, отмечено заметное ослабление интенсивности по сравнению с контрольными опытами. Наиболее контрастна эта зависимость на поздних стадиях развития растения [Дубоносов и др., 1971].

Следует отметить, что приведенные характерные формы изменения свечения биосистем при действии различных раздражителей не являются строго специфическими по отношению к определенным раздражителям. Для одного и того же раздражителя в зависимости от дозы и длительности действия форма ответной реакции свечения клеток может меняться.

Было найдено [Мамедов, 1970, 1971; и др.], что изменение интенсивности биохемилюминесценции прямо пропорционально дозе действующего фактора до тех пор, пока эта доза не станет критической для жизнедеятельности организма, в этом случае наступает резкое изменение интенсивности свечения.

Наши исследования культуры ткани, зараженной вирусами, с помощью фотоэлектронного умножителя преследовали цель выявления кинетических закономерностей электромагнитного излучения системы вирус — клетка, которые, возможно, могли бы

объяснить этапность развития «зеркального» цитопатического эффекта.

Нас интересовал вопрос о том, какую информацию в виде электромагнитного излучения от клеточного монослоя, индуктора, пораженного экстремальным агентом (различные виды вирусов), получают клетки детектора. Была предпринята попытка зарегистрировать электромагнитное излучение от клеток индуктора с помощью физического детектора фотоэлектронного умножителя. Для этого мы использовали ФЭУ-39 со спектральной чувствительностью в диапазоне 220—650 нм (тах 390 нм) и катодной чувствительностью 70 $\mu\text{A}/\text{лм}$. Термостатированную кювету помещали на расстоянии 1 см от фотокатода. Выделение полезного сигнала из посторонних шумов проводилось путем прерывания светового потока и синхронного вычитания шума. Разность $[(\text{сигнал} + \text{шум}) - (\text{шум})]$, равная чистому сигналу, регистрировалась самопишущим прибором.

Данные измерения статистически обрабатывали, определяя границы доверительных интервалов. Были построены кривые изменения интенсивности излучения для каждого эксперимента. Затем строились усредненные графики (по 5 экспериментам) для каждого типа культур и вирусов.

Для учета спонтанного излучения установки и среды, в которой находились клетки, перед началом каждого эксперимента регистрировали излучение среды 199, что служило контролем интенсивности фона.

Для проведения экспериментов использовали первичные культуры ткани — фибробласты эмбриона человека и куриных эмбрионов и перевиваемая линия L-клетки мышиных фибробластов. Ткань выращивалась в виде монослоя в стеклянных матрасах.

За 40 мин до проведения эксперимента ростовая среда сливалась и клеточный монослой снимался со стекла раствором версена. Образующаяся суспензия центрифугировалась, затем клетки разбавлялись средой 199 до концентрации 1,5—2 млн./мл. Исследовали линии клеток, чувствительные и нечувствительные к экстремальному агенту.

В качестве экстремальных агентов использовали аденовирусы (типы 5 и 23), адаптированные соответственно к L-клеткам и культуре ФЭЧ, а также вирус классической чумы птиц, адаптированный к КЭ. Заражение производилось непосредственно в кювете квантометра: соединялся 1 мл суспензии, содержащей 1,5—2 млн. клеток и 1 мл среды 199, с вирусом в титре 10^{-4} . Регистрация излучения начиналась через 1—2 мин после заражения. Вся подготовка к опыту шла в затемненной комнате. Параллельно ставился биологический контроль на развитие вируса в клеточной культуре в чашке Карреля, который просматривался в часы квантометрии на проявление цитопатического эффекта как с чувствительными, так и с нечувствительными клеточными

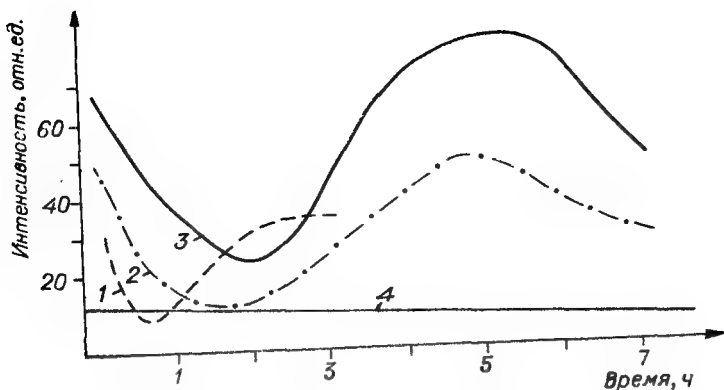


Рис. 3. Изменение интенсивности излучения системы вирус — клетка:

1 — культура куриных эмбрионов, зараженных вирусом классической чумы птиц; 2 — культура фибробластов эмбриона человека, зараженная аденовирусом 23-го типа; 3 — культура мышинных фибробластов, зараженная аденовирусом 5-го типа; 4 — уровень фона.

линиями, зараженными вирусом классической чумы птиц и аденовирусом (типы 5 и 23). Одновременно проводились эксперименты по получению «зеркального» ЦПЭ в камерах биологического детектора.

В результате регистрации электромагнитного излучения чувствительных клеток, зараженных вирусом *FPV* или аденовирусом (типы 5, 23), мы получили характерное изменение интенсивности излучения системы вирус — клетка, которое представлено на усредненных графиках для каждого вида культур типа вирусов (рис. 3).

В опытах же с нечувствительной к вирусу классической чумы птиц (*FPV*) клеточной линией мышинных фибробластов характер изменения интенсивности излучения, с достоверностью 95%, не отличается от излучения, регистрируемого от линии *L*-клеток, не зараженных вирусом, взятой нами в качестве контроля (рис. 4).

В контрольной серии экспериментов регистрировали излучение среды 199, содержащей вирус; среда 199 без вируса; пустая чистая кювета квантометра и взвесь клеток без вируса. Взвесь клеток излучает кванты электромагнитного поля, интенсивность которых монотонно убывает в 2—3 раза. Зарегистрированное изменение интенсивности излучения каждого вида культур представлено на рис. 5.

Интенсивность излучения суспензии вирусов среды 199 и кюветы не изменялась в течение 10—12 ч и варьировала от опыта к опыту от 5 до 20 имп/с. Это значение рассматривалось нами как фон.

Интенсивность излучения в контрольной группе несколько изменялась от опыта к опыту, но существенного отличия за 6—10 ч

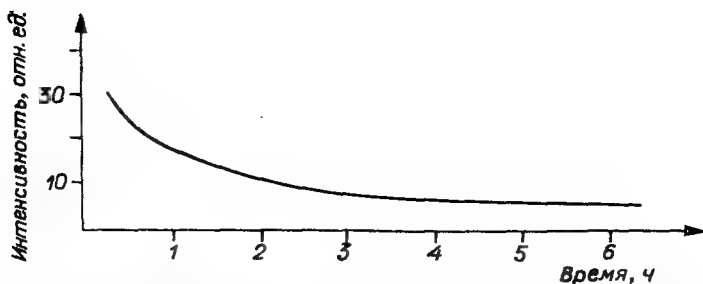


Рис. 4. Изменение интенсивности излучения культуры мышинных фибробластов, соединенных с вирусом *FPV* (вирус в этой культуре не размножается).

регистрации не наблюдалось. Для всех исследованных культур характерно монотонное убывание интенсивности излучения клеток.

Излучение суспензии клеток, зараженных чувствительным к ним вирусом, имеет ярко выраженный характер: в течение первых 40—60 мин контактирования клеток с вирусом интенсивность излучения на 100—400% выше, чем у незараженных клеток; в начале этого периода наблюдается возрастание интенсивности, а в конце — резкий спад до уровня фона; затем следует «темновой» период: 1,5—3 ч интенсивность имеет минимальное значение, близкое к уровню фона; затем интенсивность вновь возрастает, как правило, превышая первоначальное значение в 2—3 раза; и в течение следующих 2—6 ч регистрируется электромагнитное излучение значительной интенсивности.

Нетрудно заметить, что временной ход кривой излучения системы вирус — клетка в общих чертах, повторяющихся во всех опытах, достаточно точно отражает этапы взаимодействия вируса с клеткой: период адсорбции и проникновения (40—60 мин); латентный период (1,5—3 ч) и репродукцию вирусной частицы.

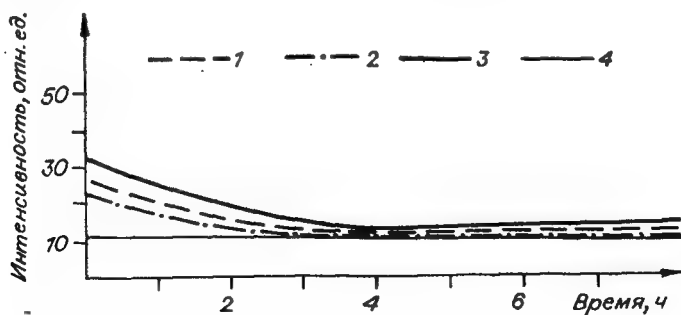


Рис. 5. Изменение интенсивности излучения клеток.
1 — культура куриных фибробластов; 2 — культура фибробластов эмбриона человека; 3 — перевиваемая культура мышинных фибробластов; 4 — уровень фона (среда 199).

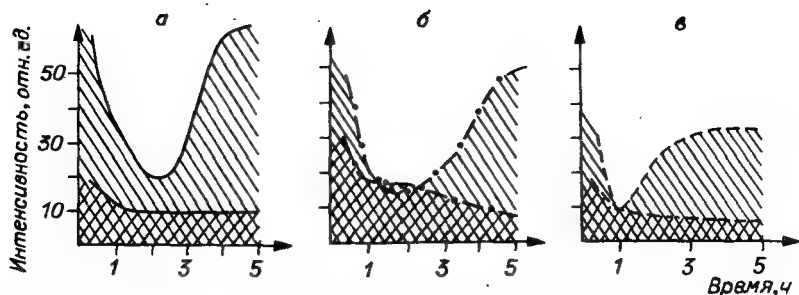


Рис. 6. Сравнение светосуммы излучения системы вирус — клетка и нормальной культуры ткани.

а — мышечные фибробласты; б — фибробласты эмбриона человека; в — куриные фибробласты.

Особый интерес представляет соответствие различий в этих временных интервалах для различных вирусов: у РНК-содержащего вируса соответственно все периоды в 1,5–2 раза короче, чем у ДНК-содержащих аденовирусов, и кривая излучения культуры КЭ, зараженной вирусом, аналогично «сжата» в 1,5–2 раза по сравнению с кривыми излучения культуры ФЭЧ, зараженной *Ad-23*, и культуры Z-клеток, зараженной *Ad-5*, с другой стороны, минимальное время проявления «зеркального» эффекта для опытов с вирусом *FPV* — 4 ч, а для аденовирусов — 6 ч можно объяснить тем, что интенсивность излучения за соответствующее время заведомо достигает максимального значения.

Причем интегральная интенсивность излучения («светосумма») системы вирус — клетка в несколько раз выше интегральной интенсивности излучения незараженных клеток или клеток, зараженных нечувствительным к ним вирусом (рис. 6).

Очевидно, это удовлетворительно объясняет, почему под действием излучения инфицированных клеток в наших моделях при использовании биологических детекторов появляется «зеркальный» ЦИЭ, а не наоборот, — излучение «здоровых» клеток угнетает развитие вируса.

Описанная форма усредненных кривых интенсивности электромагнитного излучения системы вирус — клетка, по-видимому, отражает закономерности взаимодействия вируса с чувствительной клеткой. Корреляция длительности различных фаз излучения с типом вируса позволяет судить о специфике электромагнитного излучения клеток, находящихся в экстремальном состоянии — это становится очевидным при сравнении кривых излучения каждого опыта. При более длительной регистрации излучения клеток, зараженных аденовирусом 5-го типа, и ФЭЧ, зараженных *Ad-23*, получено повторение описанных циклов излучения (рис. 7).

Таким образом, полученные нами данные позволяют надеяться, что модуляционные характеристики электромагнитного излуче-

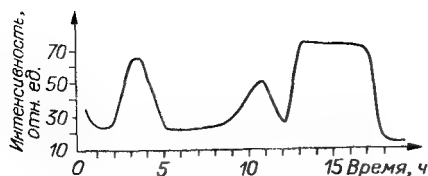


Рис. 7. Изменение интенсивности излучения культуры L-клеток, зараженных аденовирусом (иссредненная кривая).

ния клеток, пораженных вирусом (или другим экстремальным агентом), несут информацию об инфекционном процессе, управляя и обуславливая развитие мнимого вирусного поражения — «зеркального» ЦПЭ. Можно предположить, что модуляция сигнала имеет частотный характер, т. е. с изменением состояния клеточного метаболизма меняется спектральный состав излучения клетки. Предположение о возможности спектральной модуляции тем более вероятно, что биологическое действие облучения с различным спектральным составом имеет существенные отличия. Например, свет с длиной волны 280 нм и интенсивностью 10^5 $h\nu/cm^2 \cdot s$ ускорял наступление первой волны почкования в дрожжевой культуре, синхронизированной голоданием [Купнев, 1965], а облучение сфокусированным лучом гелий-кадмиевого лазера монослоя культуры клеток кожи-мышечной ткани эмбриона человека приводит к повышению уровня хромосомных перестроек [Мостовников, Хохлов, 1977].

С другой стороны, еще Бауэром (1934) обсуждалась возможность «поляризованного лучеиспускания» и вероятность «значения поляризованного света для некоторых биологических процессов». Из этих соображений вытекает принципиальная сложность регистрации излучения живых объектов [Бауэр, 1934] с помощью фотоэлектрического эффекта, так как результат измерения будет зависеть от взаимного расположения поверхности детектора и направления поляризованного света (максимальная интенсивность будет регистрироваться, если плоскость электрического вектора электромагнитного излучения будет перпендикулярна поверхности детектора).

Рассматривая излучение биологической системы в качестве возможного регулятора биологических функций, Ф. Попп (1979), анализируя результаты своих измерений сверхслабого испускания фотонов живых клеток, считает, что биологические системы можно представить как связанные нелинейные осцилляторы; каждый осциллятор можно рассмотреть как полный резонатор, а поскольку речь идет о резонансе, то предполагается высокая поляризация и проводимость при крайне эффективной трансформации и утилизации энергии и способности системы хранить информацию в течение продолжительного времени.

Кроме того, хотя современная теория информации и связи отвергает возможность модуляции сигнала по интенсивности вследствие крайней ненадежности этого способа, по-видимому,

неправомерно не приписывать и его во внимание при исследовании чрезвычайно чувствительных и тонких биологических механизмов.

Глава V

ВЛИЯНИЕ ГЕЛИОГЕОМАГНИТНОЙ ОБСТАНОВКИ НА ДИСТАНТНЫЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Все живое на Земле постоянно испытывает влияние различных факторов внешней среды: света, изменение температуры, влажности, гравитационного поля, барометрического давления и т. д., очевидно, что каждый из этих факторов сыграл определенную роль в эволюции. В процессе эволюции земные организмы приспособились к влиянию природных физических вариаций и выработали по отношению к ним защитные механизмы. Накоплены многочисленные данные, указывающие на важную роль гелиокосмофизических, географических и метеорологических факторов и их влияние на биосферу Земли и составляющие ее элементы [Вернадский, 1960; Чижевский, 1973]. Идеи В. И. Вернадского о биосфере долгое время оставались непонятны широкому кругу ученых, но освещенные новыми достижениями в различных областях естествознания они обрели «вторую жизнь», изменяя традиционные представления о фундаментальных основах жизни. К изучению организации биосферы подходят с кибернетической позиции, вследствие этого на первый план выступают информационные взаимосвязи. Накоплен уже обширный эмпирический материал о взаимодействии биологических систем посредством электромагнитных полей и о гелиобиологических и космофизических связях, обусловленных влиянием на биосферу электромагнитных полей солнечного и космического происхождения. Все очевиднее становится, что эти солнечные космические факторы играют важную роль в пространственно-временной регуляции процессов в биосфере. Развивая идеи В. И. Вернадского в свете достижений современного естествознания, А. С. Пресман (1967, 1976) предложил концепцию о планетарно-космических основах организации жизни.

К настоящему времени установлено, что вокруг земного шара существует магнитное поле. Геомагнитное поле (ГМП) различно по структуре и свойствам. По структуре геомагнитное поле Земли можно разделить на постоянное (период изменения многие сотни лет) и переменное поле (период внутри года). Величина переменного поля не превышает примерно 2% величины постоянного поля.

Геомагнитные полюсы располагаются там, где магнитная ось пересекает поверхность Земли. На северном геомагнитном полюсе

напряженность поля составляет 0,6 Э, на южном — 0,7, на магнитном экваторе — 0,35 Э.

Переменные ГМП имеют либо определенный и плавный ход, либо беспорядочный, при котором амплитуды, фазы и периоды колебаний резко и непрерывно изменяются.

Любые изменения параметров ГМП от спокойного уровня являются геомагнитными возмущениями. Их амплитуда колеблется от единиц до тысяч гамм, длительность их — от секунд до суток. Возмущения естественного МП Земли могут иметь локальный характер и наблюдаться только в ограниченном секторе долгот и широт или охватывать одновременно всю Землю. Такие возмущения принято называть магнитными бурями.

Выделяют магнитные бури с внезапным и постепенным началом. В первом случае на фоне спокойного хода всех элементов внезапно происходит скачок, отмечаемый одновременно в пределах 1—2 мин на всех станциях Земли. Во втором случае возмущения возникают в виде постепенного увеличения амплитуды всех элементов, при этом начальный момент с той точностью, с которой он устанавливается для бурь с внезапным началом, определить не удастся. В этом случае моменты начала бури, определяемые на разных станциях, могут отстоять друг от друга на час и больше [Яновский, 1978].

Одним из видов изменения геомагнитного поля являются геомагнитные пульсации. Это электромагнитные волны очень низкой частоты, наблюдающиеся на поверхности Земли. Геомагнитные пульсации разделяются на два класса: 1) регуляторные P_c (имеют квазисинусоидальную форму и устойчивый режим колебаний); 2) перегуляторные P_i (имеют вид коротких колебаний с широким и нестационарным спектром частот). Регуляторные пульсации P_c охватывают весь диапазон быстрых колебаний с периодами приблизительно от 0,2 до 1000 с. Пульсации P_i делятся на две группы с периодами 1—40 и 40—150 с. Геомагнитные пульсации занимают диапазон частот от миллигерц до нескольких герц.

Межпланетное магнитное поле представляет собой магнитное поле солнечной фотосферы, выносимое в космическое пространство расширяющимися потоками солнечной плазмы. В среднем это магнитное поле примерно ориентировано либо по направлению к Солнцу, либо от Солнца. При рассмотрении секторной структуры межпланетного магнитного поля в плоскости эклиптики могут быть выделены секторы с противоположной направленностью (полярностью межпланетного магнитного поля). Положительная полярность (+) наблюдается в секторе с ориентацией межпланетного магнитного поля от Солнца; в секторе с ориентацией поля к Солнцу — отрицательная полярность (—). При переходе из сектора одной полярности в сектор другой меняется несколько параметров, включая уровень магнитной возмущенности, амплитуду микропульсаций в некоторых частотных полосах.

Для характеристики степени магнитной активности, сопоставления вариаций магнитного поля Земли с другими физическими явлениями, а также для нахождения связи между ними используют индексы магнитной возмущенности. Их разделяют на локальные (K_L), характеризующие возмущенность магнитного поля в основном вблизи данной обсерватории, и планетарные (A_p), характеризующие возмущенность магнитного поля всей Земли в целом. Планетарный индекс (A_p) — это размах колебаний горизонтальной компоненты геомагнитного поля, усредненный по ряду магнитных станций. Для оценки степени возмущенности ГМП используют девятибалльную шкалу. Это численная характеристика степени возмущенности, выраженная в баллах, где каждому баллу соответствует амплитуда колебаний магнитных элементов за 3-часовой промежуток с поправкой на спокойную суточную вариацию. Величина деления шкалы выбирается своя для каждой обсерватории, чтобы исключить влияние широты места, так как степень возмущенности на разных широтах различна при одной и той же активности Солнца.

Естественное электромагнитное поле Земли постоянно находится в непрерывном изменении, при этом наблюдаются вариации различных параметров, которые связаны в основном с солнечной активностью. Показателем солнечной активности является индекс Вольфа, который представляет собой сумму пятен на видимом диске Солнца, сложенную с удесятеренным количеством групп пятен. Индекс вспышечной активности Солнца (F) — это суммарная за сутки площадь всех зарегистрированных хромосферных вспышек с учетом их яркости.

Строгой функциональной зависимости роста магнитной активности от солнечной активности установить еще не удалось. Однако при рассмотрении графиков солнечной и магнитной активности можно утверждать, что в годы максимального количества солнечных пятен магнитная активность также достигает наибольшей величины, хотя ее возрастание несколько запаздывает по отношению к росту солнечной [Яновский, 1978].

Анализ наблюдений и проведенные экспериментальные исследования позволяют утверждать, что одним из наиболее важных параметров внешней среды является естественное электромагнитное поле Земли, обладающее сложной структурой и свойствами.

Поднят вопрос о биологическом значении естественных электромагнитных полей, о значении геомагнитного поля для функционирования живых организмов. Интерес к этому вопросу вызван тем, что экспериментальные наблюдения и теоретические исследования дают основание считать, что естественный фон Земли является необходимым эволюционно сложившимся условием для нормальной жизнедеятельности биологических систем. Геомагнитное поле Земли влияет на живые существа любой степени организации — от простейших до высших. Это влияние характери-

зуется многообразными эффектами — от изменений на молекулярном уровне до реакций целостного организма.

Многочисленными исследованиями удалось выявить статистические закономерности, убедительно демонстрирующие тесную связь между динамикой геомагнитных возмущений и дисфункцией живых организмов на разных структурных уровнях их организации [Музалевская, 1973]. Определенную корреляцию между геомагнитными возмущениями и заболеваемостью первыми, сердечно-сосудистыми, инфекционными, психическими и другими болезнями приводят многие авторы [Новикова, 1968; Чижевский, 1973]. В работах А. Л. Чижевского впервые обобщен и проанализирован обширный материал, касающийся корреляции между солнечной активностью и ходом пандемий, эпидемий холеры, чумы, гриппа. А. Л. Чижевским (1973) показано, что ритм этих эпидемий согласуется с ритмами солнечной активности.

В последние годы получены указания на наличие пренатальных воздействий со стороны гелиофизических параметров. В частности обнаружено, что риск заболеваемости психозами пропорционален числам Вольфа в пренатальный период болезни [Исхаков, 1972]. Было показано, что уровень солнечной активности в год рождения ребенка в некоторой степени детерминирует его конституциональные особенности [Козлов и др., 1969].

Безусловно, что между солнечной активностью и процессами, происходящими в биосфере, существует тесная связь. Механизм ее, однако, не ясен. Вероятно, эта связь имеет сложный, многоступенчатый характер.

Под солнечной активностью понимают как внутренние процессы, происходящие на Солнце, так и внешние формы их проявления (пятна, факелы, хромосферные вспышки и т. д.), сопровождающиеся излучением колоссальной энергии. Показано, что одним из основных проводников солнечного влияния на Землю является геомагнитное поле. При этом обнаружено существование тесной связи между магнитным полем Солнца, его окружения и магнитным полем Земли.

Многие исследователи, в течение ряда лет сравнивая разные биологические, физико-химические, химические, геофизические процессы, происходящие в различных частях земного шара, отметили, что они синфазны и синхронны. Синхронность прослеживается в резком одновременном изменении биологических явлений. Кроме того, наблюдают четкую синфазность колебаний биологических процессов на протяжении года (сезонные ритмы) и многих лет (когда учитываются показатели процессов в целом за год) [Дубров, 1974].

Анализ экспериментального материала, полученного с 1966 по 1976 г., по выявлению дистантных межклеточных взаимодействий показал, что существует сезонная и суточная зависимость в проявлении «зеркального» ЦПЭ от каких-то причин, приходящих извне.

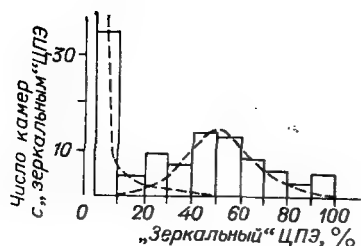


Рис. 8. Гистограмма проявления «зеркального» эффекта в результате дистантных межклеточных взаимодействий в течение 1966—1976 гг.

Для решения этого вопроса проведен статистический анализ результатов исследований «зеркального» ЦПЗ с целью выяснения вопроса — существует ли зависи-

мость количества «положительных» результатов (когда эффект наблюдается) от месяца наблюдения. Накопленный материал позволяет решать этот вопрос в следующих направлениях.

1. По всему накопленному материалу без подразделения на месяцы и годы (рис. 8).

2. В приложении к сумме экспериментов, проведенных в течение фиксированного месяца за весь период, например, все эксперименты, проведенные в течение января — февраля и т. д. 1966—1976 гг. (рис. 9).

3. В приложении к сумме экспериментов, выполненных в течение одного года (рис. 10).

По результатам анализа можно отметить следующее.

1. В целом, если рассматривать все эксперименты за 10 лет независимо от месяца и года, оказывается, что почти в любом месяце наблюдаются как положительные, так и отрицательные результаты (см. рис. 9).

Существуют два распределения, связанные между собой в соответствии с гистограммой (см. рис. 8). При построении гистограмм видны две тенденции: проявление «зеркального» ЦПЗ от 0 до 30% (отрицательный и слаболожительный результат), который отмечается в 40% случаев из 100, но в остальных 60% случаев мы имеем четкое распределение, стремящееся к нормальному, где максимум падает на 60—70%.

2. В случае, когда эффект наблюдается, доля экспериментов для вышеуказанных выборок изменяется в зависимости от месяца

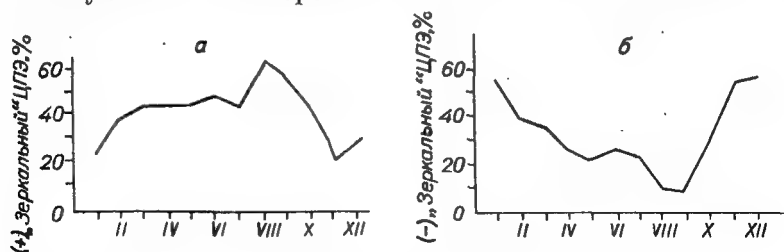
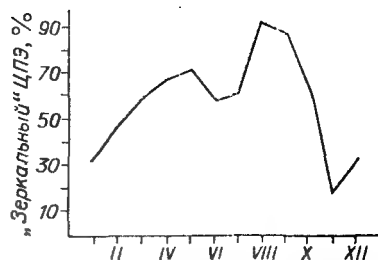


Рис. 9. Проявление «зеркального» ЦПЗ по месяцам за 10 лет (1966—1976).

а — число камер с положительным «зеркальным» ЦПЗ; б — число камер, в которых «зеркальный» ЦПЗ не проявился (отрицательный результат опытов).

Рис. 10. Проявление «зеркального» ЦПЭ в течение 1966 г.



па наблюдения, что следует из гистограмм (рис. 11). Прослеживается резкое угнетение доли отрицательных и слабopоложительных результатов от января к маю и вновь возрастание отрицательных результатов от сентября к декабрю. Показано, что отрицательный результат есть всегда, но доля его в каждом месяце меняется (см. рис. 8, 9, 11).

3. Средний процент положительных экспериментов зависит от месяца наблюдения, при сопоставлении полученных нами гистограмм от месяца к месяцу (например, февраль, март, май, июнь и т. д.) (см. рис. 11).

Таким образом, существует сезонная зависимость «зеркального» ЦПЭ, проявление его носит диалектический характер, т. е. мы можем иметь как положительные, так и отрицательные результаты, но вероятность их в различные месяцы различна.

Многолетние исследования феномена дистантных межклеточных взаимодействий показали, что «зеркальный» ЦПЭ наблюдается в среднем от 65 до 85% случаев для 5%-ного уровня значимости в зависимости от месяца года, но в то же время наблюдаются дни с «отрицательным» ($\leq 30\%$) результатом в месяцы с максимальным (в среднем 80%) проявлением «зеркального» ЦПЭ.

Анализ накопленного материала (свыше 12 000 опытов) показывает, что частичную невоспроизводимость экспериментов, осуществляемых при стандартных условиях, трудно объяснить толь-

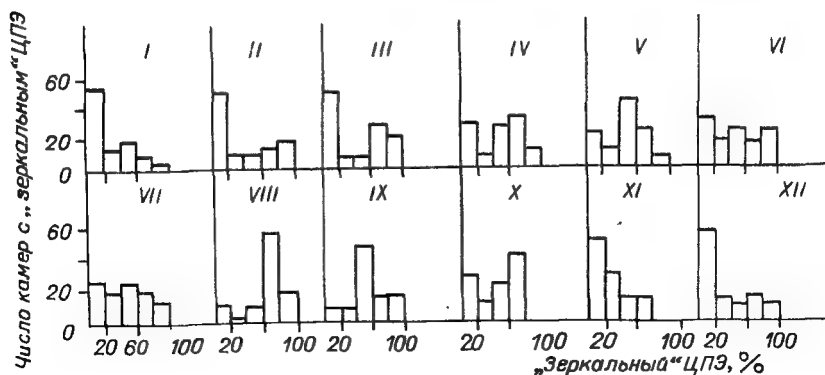


Рис. 11. Гистограммы проявления «зеркального» ЦПЭ по месяцам в среднем за 10 лет.

ко техническими или методическими погрешностями. Это хорошо согласуется с тем фактом, что воспроизводимость опытов для некоторых культур тканей обнаруживает отчетливый сезонный ход: «отрицательные» результаты чаще фиксируются зимой. Однако и для летнего периода, когда воспроизводимость опытов выше, часть экспериментов дает низкий (либо нулевой) результат, на что мы указывали выше. Такая ситуация наводит на мысль о возможности влияния на исход опыта неконтролируемых гелиогеофизических факторов. В связи с этим проведено сопоставление зафиксированного в описанных опытах процента наблюдаемого цитопатического «зеркального» эффекта с гелиогеофизическими индексами.

Совместно с сотрудником Крымской обсерватории Б. М. Владимирским проверена возможность влияния геомагнитной возмущенности на воспроизводимость экспериментов по «зеркальному» ЦПЭ.

Важнейшими гелиогеофизическими факторами являются, по-видимому, амплитудно-спектральные вариации фоновых электромагнитных полей очень низких частот, поэтому в качестве индексов для сопоставления выбраны показатели, отражающие эти вариации: полярность межпланетного магнитного поля («+», «-»), планетарный индекс геомагнитной возмущенности (A_p), дюрихские относительные числа солнечных пятен (R_z). Известно, что степень влияния гелиогеофизических факторов зависит во многих случаях от сезона. В связи с этим сопоставление проводилось отдельно для зимних и летних месяцев. Все вычисления сделаны на ЭВМ ЕС-1020. Использовался метод наложения эпох, который заключается в следующем: условно день с определенным геомагнитным событием (в частности, за нулевой день во всех случаях брался день посадки ткани) выбирается в качестве реперной точки (нулевая «эпоха»). Значение индекса в эту дату заносится в таблицу. В той же строчке влево записывается значение индекса за один день ($-1d$), два ($-2d$), три ($-3d$), четыре дня ($-4d$) до нулевой эпохи. Вправо от нулевой эпохи записывается значение индекса после эксперимента — спустя один ($+1d$), два ($+2d$), три ($+3d$), четыре дня ($+4d$). Со следующей датой поступают аналогичным образом, значение индекса записывается под соответствующим днем первой строки. Если индекс относительно реперной даты изменяется хаотически, итоговый ход средних значений индекса — прямая параллельная оси абсцисс с соответствующими флуктуациями (флуктуации тем меньше, чем больше число «эпох»). Если имеется тенденция к когерентности, систематические изменения в среднем значении индекса выделяются на фоне уменьшенных флуктуаций. При использовании метода наложения «эпох» важно, чтобы опорные даты («нулевые эпохи») отстояли друг от друга на интервал времени, не меньший, чем выбранный интервал исследования. Соответственно в данном случае из таблиц дат экспериментов выбирались только

даты, отстоящие друг от друга не менее чем на $7d$. Отдельно изучались группы опытов с хорошо выраженным эффектом ($\geq 30\%$ — положительный опыт) и отрицательным результатом ($\leq 30\%$).

Значения индекса A_p брались из международной сводки Solar geophysical data (США, 1965—1976 гг.). Смысл этого индекса — усредненный по ряду магнитных станций размах колебаний горизонтальной компоненты геомагнитного поля. Для спокойных условий $A_p \simeq 2-5$; магнитная буря соответствует $A_p \simeq 50$. На графике обращает на себя внимание ход A_p в интервале $(-4d)-(-1d)$. Видно, что для «удачных» и «неудачных» опытов ход индекса прямо противоположен. A_p для «неудачных» опытов повышен для $-4d$ и падает в $\simeq 1,4$ раза в день для $-1d$. Для «удачных» опытов ситуация обратная.

Каталоги данных Svalgard за 1965—1976 гг. (США), С. М. Мансурова за 1965—1976 гг. (СССР) содержат информацию о межпланетном магнитном поле. При переходе из сектора одной полярности в сектор другой меняется сразу несколько параметров, включая уровень магнитной возмущенности, амплитуду микропульсаций в некоторых частотных полосах, градиент потенциала. Установлено, что некоторые показатели жизнедеятельности организма (в частности, бактерий) чувствительны к изменению полярности, хотя конкретная причина этого неизвестна. Из рассмотренного материала следует, что отрицательные опыты имеют тенденцию располагаться так, что в дни $-3d$ — $-1d$ преобладают секторы положительной полярности. Для положительных опытов ситуация противоположная (преобладание в этом же интервале дней с отрицательной полярностью).

Данные для индекса R_z имеются только с 1969 г., ранее индекс не вычислялся из-за малой статистики, в данном случае четкого результата не получено. Можно только сказать, что R_z — индекс для отрицательных опытов — в среднем больше для интервала $(-5d)-(-1d)$, чем для интервала $(+1d)-(+7d)$, т. е. большие вспышки имеют тенденцию сопутствовать отрицательным результатам.

Для сопоставления из всего массива данных отобраны три серии экспериментов, в достаточной мере обеспеченных статистически, проведенные на культурах тканей: фибробласты эмбриона человека (ФЭЧ), куриные фибробласты (КФ), культура раковой ткани гортани человека (Нер-2).

Некоторые из результатов для двух видов культур тканей представлены на рис. 12. Для графиков *а*, *б* по вертикальной оси отложено число дней с положительной (+) и отрицательной (—) полярностями межпланетного магнитного поля для положительных (*а*) и отрицательных (*б*) опытов. На графиках *в* по вертикальной оси отложены значения индекса A_p . На всех графиках по горизонтальной оси отложены даты экспериментов (по методу Кри). Анализ результатов позволяет отметить следующее (см. рис. 12, *А—В*).

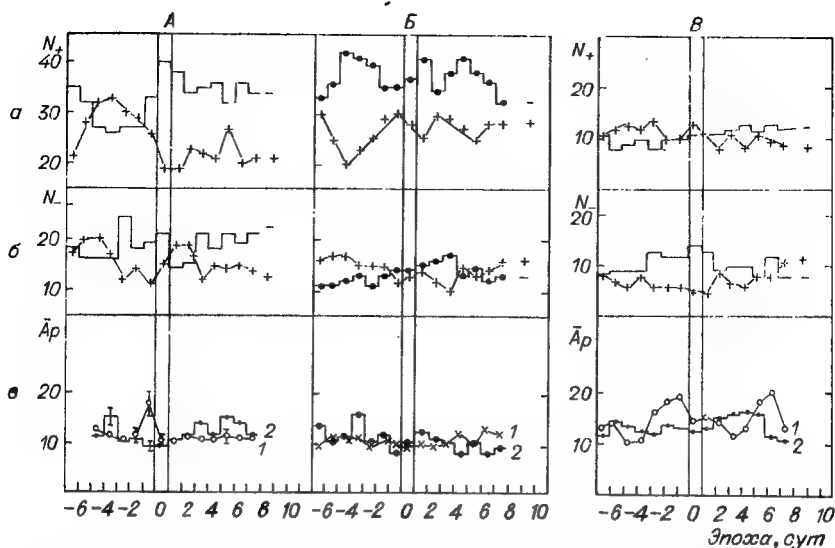


Рис. 12. Анализ проявления дистантных межклеточных взаимодействий методом наложения эпох (проводился в Крымской астрофизической обсерватории на ЭВМ ЕС-1020).

А — в клеточной культуре ФЭЧ за 1965—1976 гг.; Б — в клеточной культуре КФ за 1965—1972 гг.; В — в клеточной культуре Нер-2 за 1971—1977 гг.; а — распределение полярности межпланетного магнитного поля для «положительных» опытов, в которых «зеркальный» ЦПЭ проявлялся в $\geq 30\%$ всех пар камер; б — распределение полярности межпланетного магнитного поля для «отрицательных» опытов («зеркальный» ЦПЭ не проявляется); в — распределение Ар-индекса для «удачных» (1) и «отрицательных» (2) опытов;

1. Для культур ФЭЧ все кривые для опытов с положительным исходом существенно отличаются от кривых опытов с отрицательным результатом (см. рис. 12). Высокие показатели эксперимента приходится на ситуацию, при которой за $(-2d)$ до посадки ткани происходит смена полярности межпланетного магнитного поля (+), (-) (график, а). Этому соответствует значительное ($\approx -1,8$ раза) возрастание Ar в $(-1d)$, см. график, в) и соответственно меньшее значение R_z . Эффект является систематическим, не зависит от сезона и фазы солнечного цикла. Степень его выраженности уменьшается при снижении результативности опыта. Для отрицательных опытов распределение дней по возмущенности в Ar не имеет значения.

2. Эксперименты с культурой КФ (см. рис. 12, Б) имеют большие шансы на положительный исход, если опыты приходится на дни отрицательной полярности межпланетного поля. Это, по-видимому, особенно существенно перед посадкой ткани (сравните графики а и б). Изменения уровня геомагнитной возмущенности (индекс Ar) на исход опыта не влияют (см. график в).

3. Статистика опытов на культурах тканей Нер-2 недостаточна для уверенного суждения (см. рис. 12, В). Однако можно ду-

мать, что распределение положительных и отрицательных опытов аналогично экспериментам с культурой ФЭЧ. Эффект в данном случае более четко выражен для зимы.

Таким образом, во всех изученных сериях опытов влияние гелиогеофизических факторов хорошо заметно; оно зависит от вида культуры тканей. Истолковать обнаруженные эффекты в настоящее время затруднительно. Однако можно заметить, что практически во всех случаях успешные опыты чаще приходится на дни отрицательной полярности межпланетного магнитного поля. Если это характерно для разных видов клеток, то в дни отрицательной полярности межпланетного магнитного поля клетки исследуемых культур тканей должны испытывать некоторое «адаптационное напряжение». На этом фоне наблюдение «зеркального» ЦПЭ должно иметь больше шансов на успех. Непосредственно действующий фактор — электромагнитное поле — может влиять при этом на ферментные системы клеток, очень чувствительные к изменениям параметров поля.

Известно, что одним из важнейших гелиофизических факторов являются возмущения магнитного поля Земли, вариации которого зависят от широты. Амплитуда колебаний геомагнитного поля в диапазоне микропульсаций возрастает от средних широт к высоким, некоторые типы микропульсаций регистрируются только в высоких широтах.

Полоса вдоль 67-й геомагнитной широты, называемой авральный овал, — арена протекания сложного комплекса электромагнитных явлений, тесно связанных с солнечной активностью. Существенной особенностью данной зоны являются изменения в структуре цикличности возмущений ГМП: электромагнитная обстановка заметно изменяется при переходе от полярной ночи к полярному дню. От средних широт к высоким (67°) возрастает амплитуда колебаний геомагнитного поля в диапазоне микропульсаций, и величина этого возрастания зависит от частоты, что приводит к большим изменениям спектрального состава возмущений ГМП при перемещении по широте.

Вариации характеристик возмущений ГМП с широтой должны сказываться на показателях жизнедеятельности организма, так как биологическая эффективность воздействия ГМП зависит от амплитуды, частоты, поляризации и некоторых других параметров поля [Владимирский, 1975]. Широтный эффект обнаружен многими авторами [Данилов и др., 1971; Ковальчук, 1974; Данилов, 1975].

Особый интерес для нас представляют биофизические аспекты, связанные с исследованиями взаимоотношений собственного электромагнитного излучения биосистемы и изменением ЭМП Земли при широтных перемещениях. Он вызван тем, что в настоящее время экспериментальные наблюдения и теоретические исследования дают основание считать ГМП наряду с другими электромагнитными факторами ответственным за биологические эффекты,

коррелирующие с вариациями солнечной активности.

Многочисленными исследованиями удалось выявить статистические закономерности, убедительно демонстрирующие тесную связь между динамикой геомагнитных возмущений и дисфункцией живых организмов на различных структурных уровнях их организации. Обнаружено, что возможной причиной этой связи являются изменения проницаемости биологических мембран и оболочек под влиянием геомагнитного поля [Дубров, 1969, 1973].

Геомагнитное поле оказывает влияние буквально на все процессы, совершающиеся в отдельных клетках, организмах, и в конечном итоге на всю биосферу Земли. Проведенные исследования показывают, что гомеостазис, т. е. способность поддерживать динамическое постоянство состава и свойства фенотипа и генотипа, может зависеть от геомагнитного поля и находиться под его контролем. Полученные данные открывают возможность для глубокого и полного объяснения некоторых проблем гелиобиологии. На основе признания роли геомагнитного поля в жизнедеятельности организмов становится понятной глобальность и синхронность гелиобиологических реакций, ибо геомагнитное поле всепроникающе и имеет различные вариации. Но вместе с тем остается недостаточно ясным ряд вопросов: какие именно геофизические факторы оказывают существенное влияние на жизнедеятельность живых организмов; имеется ли специфическое влияние их на различные виды экологических объектов (человек, животное, растения, бактерии): количественные и качественные особенности изолированного и комбинированного воздействия на биосистемы; молекулярные механизмы их биологического действия; проявления действия этих факторов на здоровых и больных людей и т. д. [Дубров, 1973, 1974].

На эти вопросы можно в значительной мере ответить при проведении одновременных (синхронных) экспериментов в различных географических пунктах Земли.

Отличительной особенностью таких экспериментов является, во-первых, то, что в каждом географическом пункте в конкретный момент времени имеется своя специфическая географическая и метеорологическая обстановка, обуславливающая локальное влияние ее на биосферу; во-вторых, указанные экологические факторы, наряду с локальными проявлениями, характеризуются глобальными эффектами, и поэтому значительные изменения указанных факторов должны отражаться на жизнедеятельности биосистем (синхронно).

Учитывая специфические особенности расположения Норильска (необычная структура электромагнитных полей, близость магнитного полюса и т. д.), для нас особый интерес представляли биофизические аспекты, связанные с исследованиями взаимоотношений собственного электромагнитного излучения биосистемы и геомагнитных факторов.

Изучая феномен дистантных межклеточных взаимодействий

(ДМВ), мы должны были не забывать о том, что имеем дело с двумя монослоями клеточных культур, взаимодействующих как между собой, так и с внешними факторами, действующими на них. Нами изучалось влияние гелиогеомагнитной обстановки в условиях средних и высоких широт в синхронном эксперименте (Новосибирск — Норильск) на монослой клеток и на воспроизводимость ДМВ. Исследования делились на два этапа: исследовали жизнеспособность клеточного монослоя и определяли особенности проявления ДМВ. Первый этап исследований проводили на перевиваемых линиях *РН*, *ФЭЧ*, *Нер-2*.

Рост перевиваемых клеточных культур изучался следующим образом.

1. Исследовали жизнеспособность клеточного монослоя, используя концентрацию клеток 80 тыс./мл для ткани *РН*, *Нер-2* и 100 тыс./мл для культуры ткани *ФЭЧ*. Взвесь клеток разливали в пенициллиновые флаконы со стеклами по 2 мл и инкубировали в термостате при 37°C. Через определенное время инкубации (6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 ч) стекла с выросшим на них клеточным монослоем фиксировали метиловым спиртом и окрашивали гематоксилин-эозином и по Фельгету. Результаты обрабатывали с учетом следующих параметров:

а) *Sp* — количество ядер на единицу площади препарата, которое характеризует плотность роста монослоя;

б) *МА* — митотическая активность (в процентах) — количество делящихся ядер на 100 ядер монослоя — пролиферативная способность клеток;

в) \bar{d} — диаметр ядер (в микронах) — среднекалиберный диаметр ядер клеток монослоя.

2. Выявляя сроки появления монослоя на стекле, определяли тест на «кооперативность» клеток (количество клеточных контактов). Для этого клеточную взвесь разливали в пенициллиновые флаконы в концентрации 50 и 100 тыс./мл. Материал фиксировали через 24, 48, 72 ч. Морфометрический анализ проводили по указанным выше параметрам (а, б, в).

3. Определяя резистентность клеточного монослоя к ядам (сулема), клеточную взвесь с концентрацией 80 тыс./мл разливали в пенициллиновые флаконы и после формирования монослоя на стекле заражали односточную (24 ч роста) и двухсточную (48 ч) клеточную культуру сулемой, концентрация которой равнялась 3 и 5 мкг/мл. Поражение монослоя оценивали по 4-балльной системе.

4. Для выяснения корреляции между перекисным окислением липидов и жизнеспособностью клеточного монослоя проведены опыты с определением интенсивности перекисного окисления липидов в Норильске по сравнению с их интенсивностью в Новосибирске, которую оценивали по образованию диеновых конъюгатов по методике Арчакова и Владимирова. Измерения проводились на спектрофотометре СФ-4.

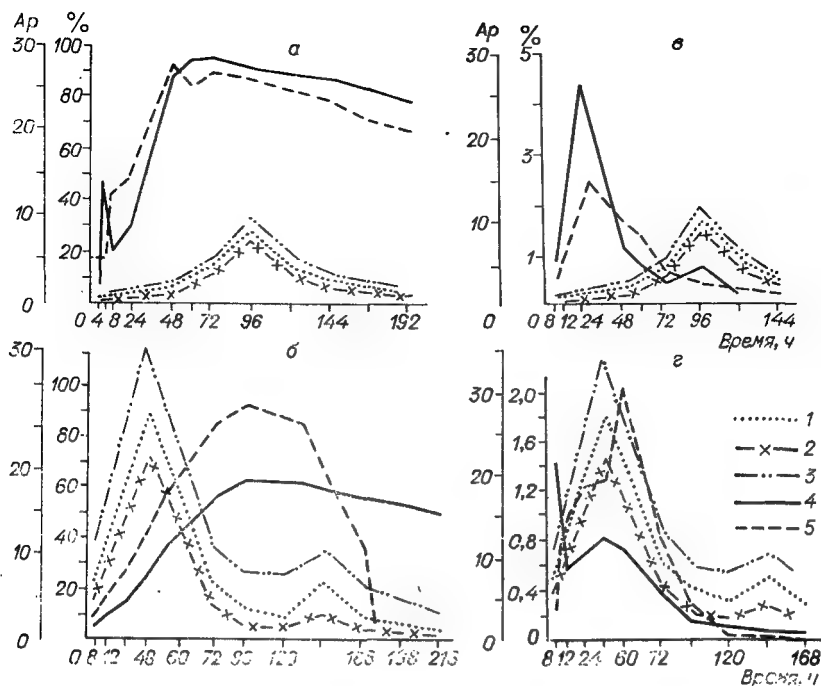


Рис. 13. Влияние гелиомагнитной обстановки на монослой клеток в условиях высоких широт по месяцам.

1 — Ар-индекс; 2 — К-индекс в Новосибирске; 3 — К-индекс в Норильске; а и б — плотность роста монослоя: 4 — в Новосибирске, 5 — в Норильске; в и г — митотическая активность: 4 — в Новосибирске, 5 — в Норильске.

Эксперимент проводили синхронно в Новосибирске и Норильске во время полярной ночи. Условия опытов строго стандартизованы: вся посуда приготовлена с использованием новосибирской воды, питательная среда, версеп — одной серии, перевиваемые клеточные линии привезены в Норильск из Новосибирска. Всего проведено три серии экспериментов по 200 флаконов в каждом. Полученные данные обработаны статистически (рис. 13).

В первой серии экспериментов обнаружено, что клетки монослоя хорошо распластываются на стекле, процесс их контактирования между собой выше по сравнению с Новосибирском, затем с 48 ч рост монослоя в Норильске становится более энергичным, на плато клетки выходят к 72 ч, затем в Норильске монослой погибает к концу 6 сут, в Новосибирске же он жизнеспособен более 9 сут. В то же время отмечается, что как в Норильске, так и в Новосибирске пик митотической активности приходится на 24 ч, но в Норильске он в 2,5 раза выше (см. рис. 13).

Во второй серии не зафиксировано существенных различий в росте клеточного монослоя в обоих пунктах, митотическая актив-

ность клеток в Норильске оказалась в 3 раза ниже по сравнению с клеточной культурой в Новосибирске. Особенностью роста монослоя в Норильске является наличие двух пиков митотической активности, приходящихся на 24 и 60 ч (см. рис. 13).

В третьей серии экспериментов установлено, что монослой в Норильске по всем параметрам растет энергичнее: плотность роста и количество ядер на единицу площади в 2 раза выше, чем в Новосибирске, пик митотической активности, приходящийся на 48 ч, выше в 3 раза. К концу 6 сут появляется много пикнотических клеток и монослой погибает, в Новосибирске в это время он жизнеспособен более 9 сут.

При исследовании действия ядов на клеточный монослой установлено, что в Норильске суточный монослой не погибал при действии 3 мкг/мл сулемы и частично погибал при действии 5 мкг/мл. Двухсуточный монослой полностью сохранялся при действии 5 мкг/мл. В суточном монослое, выращенном в Новосибирске, отмечалась гибель клеток при действии уже 3 мкг/мл. Та же картина отмечалась и при исследовании поведения 2-суточного монослоя. Таким образом, монослой в Норильске оказался более устойчивым к воздействию сулемы.

Проводя исследования на «кооперативность» с целью определения сроков появления монослоя на стекле, использовали различные концентрации: $5 \cdot 10^3$, $7,5 \cdot 10^3$, $1 \cdot 10^5$ клеток в 1 мл среды. Установлено, что в Норильске монослой образуется через 2 сут уже из $5 \cdot 10^3$ клеток/мл среды, а в Новосибирске за то же время из той же взвеси вырастают только отдельные колонии. Этот факт еще раз подтверждает наши данные о том, что в Норильске клеточная культура росла более энергично.

Учитывая статистическую достоверность полученного материала, однотипность методики работы, синхронность экспериментов и одинаковую обеспеченность каждого опыта, мы можем предполагать, что различия в результатах серий зависят не от «внутренних» условий экспериментов, а от воздействия внешних факторов, так как все условия исследований в Новосибирске и Норильске были идентичны, кроме ЭМП Земли и ряда географических показателей, не контролируемых условиями эксперимента.

Полученные результаты сравнены с данными по K -индексу, планетарному индексу (Ap) и по знакам секторов межпланетного магнитного поля, полученным в обсерваториях Норильска и Новосибирска.

В период проведения первого эксперимента по выращиванию культур геофизическая обстановка в Норильске характеризовалась высоким уровнем магнитной активности. Начало первого эксперимента совпало с магнитной бурей очень большой интенсивности с внезапным началом и амплитудой возмущения до 1500 γ , что соответствует K -индексу 8—9 баллов (ΣK за сутки 36 баллов). Активный период магнитной бури длился три дня, но и после него уровень магнитной активности оставался

высоким в течение всего эксперимента. В то же время в Новосибирске интенсивность магнитной бури была меньше (амплитуда возмущения до 330 γ , что соответствует K -индексу 7—8 баллов, ΣK за сутки равна 28 баллам). Продолжительность магнитонапряженного периода в Новосибирске также была меньше.

Таким образом, магнитная активность в период эксперимента сильнее проявилась в Норильске, этим, вероятно, можно объяснить различия в росте монослоя по всем изученным нами параметрам. Видимо, интенсивность роста привела к быстрому истощению монослоя, погибшему на 2—3 сут раньше, чем в Новосибирске. Рост монослоя в Новосибирске был более замедленным и митотическая активность в 2 раза ниже, но контактирование клеток и ядерноклеточные отношения выражены лучше, поэтому монослой оказался более жизнеспособным.

При анализе второго эксперимента видно, что больших различий в росте монослоя по указанным выше параметрам не отмечается. Оба монослоя жизнеспособны до 9 сут. Это объясняется, по-видимому, тем, что вариации ЭМП Земли в период опытов были невелики: $Ap = 8$, местные индексы Норильска и Новосибирска соответственно $K=17$, $K=15$.

В период третьего эксперимента вновь наблюдается повышение магнитной активности: в Норильске $K=36$, в Новосибирске $K=20$, а $Ap=28$, т. е. наблюдалась напряженная гелиогеомагнитная обстановка. Результаты опыта в какой-то степени повторяют динамику изученных показателей первого эксперимента.

Пик митотической активности приходится на 48 ч, совпадая в этот день с $Ap=28$. Жизнеспособность монослоя в Норильске оказалась на 3 сут меньше, чем в Новосибирске, как и в первом эксперименте.

При анализе таблиц знаков секторов межпланетного магнитного поля можно видеть, что время первого и третьего эксперимента совпадает со сменой знака $+$ на $-$, что, видимо, в какой-то мере обуславливает схожесть результатов обоих экспериментов. Во время второго эксперимента знак сменился с $-$ на $+$.

Исследования явления ДМВ в Новосибирске и Норильске проводили также синхронно. За время экспедиций проведено 20 экспериментов по 25 опытов в каждом, включая контроль.

С 20/І по 23/ІІ 1976 г. исследовали явление дистантных межклеточных взаимодействий как в Новосибирске, так и в Норильске. Впервые «зеркальный» ЦПЭ зарегистрирован в Новосибирске 2 февраля 1976 г. в 40—50% случаев. В Норильске первое проявление «зеркального» эффекта отмечено 23/ІІ 1976 г. в 30—40% случаев.

Исследования следующей экспедиции, проводившиеся в декабре 1976 г. и январе 1977 г., показали, что вначале «зеркальный» ЦПЭ отсутствовал в обоих пунктах, а с 24 декабря в Новосибирске он начал проявляться с тенденцией к стойкому увели-

чению до 60—80%. В Норильске во всех опытах эффект отсутствовал до конца февраля 1976 г.

Исследования во время полярного дня (май — июль 1979 г.) показали, что «зеркальный» ЦПЭ в эти месяцы наблюдается как в Норильске, так и в Новосибирске от 40 до 60% случаев в зависимости от дня эксперимента. В то же время отмечались дни с отрицательным результатом, когда эффект не наблюдался.

Феномен ДМВ в Норильске за период исследования проявился во время полярной ночи, в среднем на месяц позже, чем в Новосибирске. С конца февраля на данной широте заканчивается полярная ночь и над горизонтом появляется кратковременно солнце. Возможно, проявление феномена ДМВ на 69-й широте связано с углом солнца над горизонтом. Во время начала полярного дня «зеркальный» ЦПЭ проявлялся в 40—60% положительных результатов, так же как и в Новосибирске в это время года. Таким образом, нами получена определенная корреляция феномена ДМВ с параметрами гелиогеомагнитной обстановки, временем и местом проведения эксперимента.

Таким образом, в наших исследованиях, приведенных ранее (1966—1975 гг.), отмечена сезонность в проявлении дистантных межклеточных взаимодействий, которая заключалась в том, что в течение 1,5—2 мес (декабрь — январь) «зеркальный» ЦПЭ исчезал (исследования в Новосибирске), и, начиная с марта до сентября каждого указанного года, проявлялся до 60—80%.

Подводя итоги поиска влияния гелиогеографических факторов на ДМВ, можем сказать, что для экспериментов, в которых (ДМВ) эффект отсутствовал, A_p повышен и понижен для всех тех случаев, когда результат эксперимента положителен. В дни «удачных» экспериментов преобладают секторы отрицательной полярности и секторы положительной полярности — для отрицательных опытов. При анализе индекса вспышечной активности Солнца установлено, что большие значения этого индекса имеют тенденцию сопутствовать «отрицательным» опытам. Таким образом, получена определенная корреляция биологических процессов на клеточном уровне с параметрами гелиогеомагнитной обстановки, временем и местом проведения эксперимента по K -индексу (местным индексам), знаку межпланетного магнитного поля, индексу солнечных вспышек. Гелиогеомагнитная обстановка в исследуемой широтной точке, по нашим данным, может играть определенную роль в жизнедеятельности клеточного монослоя и в проявлении феномена дистантных межклеточных взаимодействий.

В настоящее время экспериментальные наблюдения и теоретические исследования дают основание считать геомагнитное поле ответственным за биологические эффекты функционирования живых организмов. Геомагнитное поле оказывает решающее влияние буквально на все процессы, совершающиеся в отдельных клетках, организмах. Влияние геомагнитного поля на живые системы с различным уровнем организации проходит и опосредуется через

сложные климатометеорологические цепи и звенья, так как эта связь основывается на сложных закономерностях, существующих в природе. Вот почему в ряде случаев влияние геомагнитного поля скрыто серией промежуточных звеньев чисто биологической взаимосвязи. На основе признания ведущей роли геомагнитного поля в жизнедеятельности биологических объектов становится понятной синхронность гелиобиологических реакций, но вместе с тем возникает ряд вопросов: какие именно параметры оказывают существенное влияние на жизнедеятельность живых организмов; количественные и качественные особенности изолированного и комбинированного воздействия на биосистемы. На эти вопросы можно в значительной мере ответить при проведении синхронных экспериментов с использованием искусственных магнитных полей. Работы по экранированию биологических объектов интересны тем, что в них делается прямая попытка полностью освободиться от воздействия геомагнитного поля или, по крайней мере, сильно уменьшить его влияние. Поставленные задачи служат целью наших дальнейших исследований.

Глава VI

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Итоги многолетних исследований (с 1965 г.) позволили получить некоторые общие характеристики информационной электромагнитной межклеточной связи. Результаты можно кратко суммировать следующим образом.

Установлено, что при наличии оптического канала связи через тонкие слюдяные и кварцевые пластины между двумя изолированными тканевыми культурами существует дистантное взаимодействие, выражающееся в повторении морфологических признаков цитопатологического процесса, индуцированного в одной из культур с помощью вирусов, двухлористой ртути и УФ-облучения в другой — интактной культуре ткани. Это явление обозначено нами как «зеркальный» цитопатический эффект («зеркальный» ЦПЭ).

При применении ингибиторов клеточного цикла (колцемид) мы получаем в «зеркальной» культуре тот же процесс метафазного блока, что и в камере-индукторе. Эта модель уже иного толка, так как здесь идет передача информации не о гибели клеток монослоя, а об изменении клеточного цикла.

Описанное явление обнаружено при взаимодействии всех исследованных нами первичных и перевиваемых гомологичных клеточных культур.

Это позволяет говорить о том, что мы, по всей видимости, имеем дело с общим биологическим явлением — своеобразной формой межклеточного взаимодействия.

Если сам факт взаимодействия отражает некоторое общее свойство клеток различных видов тканевых культур, находящихся в условиях действия разных цитопатических агентов, то морфологическое выражение этого взаимодействия («зеркальный» ЦПЭ) достаточно специфично для каждого из избранных экстремальных агентов. При оценке морфологии основного и «зеркального» ЦПЭ, расшифровывая результаты опыта «вслепую», можно уверенно сказать, действию какого агента соответствует обнаруженная картина «зеркального» цитопатического эффекта.

Первым доказательством специфичности дистантных межклеточных взаимодействий являются четкие отличия морфологии «зеркального» ЦПЭ, полученного на одной и той же линии клеток от контакта с клетками-индукторами, подвергнутыми воздействию разными экстремальными агентами. Речь идет о том, что на одной и той же культуре ткани морфологические критерии, например вирусного и ультрафиолетового «зеркального» ЦПЭ, совершенно различны. Этот факт особенно демонстративен на кинокадрах при дейтграферной микрокиносъемке, где видна динамика морфологических изменений.

Специфичность (избирательность, специализация) межклеточных дистантных взаимодействий подчеркивается тем обстоятельством, что «зеркальный» ЦПЭ максимально проявляется в парах из гомологичных клеточных культур, а слабее в близкородственных и злокачественных клетках. В гетерогенных клетках, генетически далеко отстоящих друг от друга (видовые различия, например), «зеркальный» ЦПЭ не проявляется.

Полученные данные указывают на то, что эти взаимодействия имеют черты биологической специализации. Далеко отстоящие виды имеют ограниченные и «запрещенные» возможности электромагнитного общения. Здесь можно предположить, что обнаруженный тип межклеточных взаимодействий, имея жизненно важный смысл, формировался в процессе эволюционного развития по типу соответствия приемника и источника информационного сигнала.

Специфичность дистантного взаимодействия доказывается тем, что в случае сдвига функционального состояния культуры-индуктора, характеризующегося не гибелью клеток, а торможением деления и роста клеточного монослоя в «зеркальной» культуре, повторяются те же принципиально отличные от гибели сдвиги (модель управляемого митотического цикла). Наконец, при сравнительной визуальной оценке цитологом исходной и «зеркальной» культур одной линии клеток на ряде моделей с различными экстремальными агентами (например, вирус, сулема, УФ) не представляет особого труда заметить черты сходства исходной и «зеркальной» культуры относительно экстремального агента и четкие различия между разными «зеркальными» эффектами относительно

разных агентов. Заметим, что такие морфологические признаки, как вирусные включения, в «зеркальной» культуре никогда не обнаруживались, поэтому мы говорим о чертах не только сходства, но и различия «зеркальной» и исходной культуры клеток. Проблема количественной оценки сходства и различия «зеркального» и исходного ЦПЭ может быть, видимо, решена (как и все задачи подобного класса) по мере решения проблемы распознавания образа.

Постоянный контроль состояния клеточной культуры и статистическая оценка вероятности возникновения «зеркального» ЦПЭ исключают наличие артефакта. Описанное явление дистантной связи наблюдалось более чем в 12 000 пар камер. Вероятность появления положительного «зеркального» эффекта 65—85% (для 95% доверительной вероятности). Закономерность проявления «зеркального» ЦПЭ и его универсальность подчеркиваются статистическим определением по критерию Пирсона эффективности действия трех вирусов, сулемы и УФ-радиации: она оказалась одинакова, вероятность же проявления «зеркального» эффекта при управлении митотическим циклом ниже, чем при действии летальных экстремальных агентов ($57 \pm 5,3\%$), а по критерию χ^2 можно утверждать, что существуют различия в дистантной передаче цитопатического эффекта и управления митотическим циклом. При предварительном облучении клеток детектора малой дозой УФ-радиации (15 с) наблюдалось достоверное повышение эффективности дистантных межклеточных взаимодействий, в результате чего «зеркальный» ЦПЭ развивается в 99—100% камер-детекторов, облученных ультрафиолетом в течение 15 с перед стыковкой с камерой-индуктором, в которой развивается ЦПЭ при действии вируса или сулемы. В том случае, когда «зеркальный» ЦПЭ развивался в результате контакта с клетками ткани, пораженными одним из вирусов, в культуральной жидкости и в клетках «зеркальных» камер вирус не обнаруживался даже при трехкратном пассировании. Иммунологические тесты на выявление вирусных антигенов в «зеркальной» ткани были отрицательными. Таким образом, дистантные взаимодействия, выявленные при использовании вирусов, обусловлены индуцированными особенностями метаболизма «зеркальных» клеток, приводящими их к гибели по законам, свойственным метаболическим нарушениям, сопровождающими, по всей видимости, вирусную инфекцию. При этом в «зеркальной» культуре вирус отсутствует. С одной стороны, это свидетельствует об отсутствии лабораторного загрязнения «зеркальной» культуры вирусами, с другой — свидетельствует о том, что вирусоподобный «зеркальный» ЦПЭ может быть индуцирован дистантно в интактных клетках в отсутствие самого вируса.

Обнаруженное с помощью биологического детектора явление дистантных межклеточных взаимодействий, полученное нами при наличии оптического контакта, т. е. через среду, прозрачную для электромагнитных волн в диапазоне 220—380 нм (кварцевые-

слюдяные подложки), не проявляющееся при световых помехах и при применении черного фильтра и металлической фольги, заставляет предположить, что взаимодействие осуществляется посредством электромагнитного излучения соответствующего диапазона. Действительно, при применении в качестве подложек обычного стекла, поглощающего электромагнитное излучение в ультрафиолетовой области спектра, «зеркальный» эффект не развивается. С увеличением же толщины кварцевых подложек «зеркальный» эффект пропадает, это свидетельствует о малой интенсивности сигнала. Одновременно с получением «зеркального» ЦПЭ в клеточных культурах-детекторах нам удалось зарегистрировать электромагнитное излучение клеток культуры ткани, идентичной культуре-индуктору, применяя в качестве детектора фотоэлектронные умножители (ФЭУ-39, ФЭУ-42, ФЭУ-130).

Показано, что клетки культуры ткани испускают кванты электромагнитного поля в области чувствительности ФЭУ. Характер изменения интенсивности в течение 3—12 ч зависит от условий проведения экспериментов: введения экстрамального агента, наличия освещения и т. д. Использование цейтраферной микрокиносъемки позволило отметить характерную зависимость межклеточных дистантных взаимодействий от стадии развития исходного процесса. Следовательно, описанные межклеточные взаимодействия в тканевых культурах, по-видимому, обязаны механизму, в основе которого заложены возможности специфического управления тем или иным процессом. Вряд ли правильно было бы считать, что сигналы о гибели клеток выполняют лишь функцию «включения» реакции, т. е. начального (зонального) сигнала, как это наблюдается, вероятно, в митогенетическом эффекте А. Г. Гурвича. Ясно, что процесс митоза запрограммирован в самой клетке и, если подобрать селективное воздействие, которое обладает свойством включения этой программы, то весь последующий процесс самого митоза организуется уже самой клеткой изнутри [Конев, 1965].

В приведенных же опытах совершенно иное положение дела. Вряд ли допустимо предположение о том, что цитопатический эффект, т. е. болезнь и гибель клеток под влиянием вируса, запрограммирован в самих клетках. Следовательно, для того чтобы клетка воспроизвела весь цикл «мнимого поражения» вирусом от первоначальных стадий вплоть до ее гибели, одного пускового сигнала уже недостаточно, требуется длительное постоянное воздействие на клетку каких-то факторов, которые специфически направляют бы и изменяли ее обмен от начала до конца.

Если же предположить факт длительного управления обменом в «зеркальной» культуре клетки, то следует думать об очень большом разнообразии и богатстве сигналов. Можно допускать несколько возможных вариантов подобного явления. Во-первых, полагают, что каждый цикл ферментативных превращений в пораженных клетках сопровождается электромагнитным излучением определенной частоты и поляризации [Гурвич А. Г. и др., 1934;

Бауэр 1935; Тарусов и др., 1961а, б, 1967; Журавлев и др., 1965, 1977; Баренбойм и др., 1966; Владимиров и др., 1966; Гурвич А. А. и др., 1968, 1974; и др.]. Последовательное поступление сигналов в здоровую клетку в таком случае должно реализовать в ней соответствующую активацию ферментативных систем в строгой последовательности [Конов, 1965; Сунг, 1979]. При этом утверждается то, что для клетки-индуктора излучение есть лишь потеря, свидетель ее жизни, а для клетки-детектора оно приобретает значение специфического сигнала.

Более вероятно другая гипотеза. Можно полагать, что для клетки-индуктора излучение представляет обязательное и необходимое проявление ее жизнедеятельности, т. е. речь идет о своеобразных электромагнитных полях, которые для самой клетки являются ее внутренней системой передачи информации, без которой жизнь клетки невозможна. Такое предположение было высказано не раз [Гурвич А. Г. и др., 1944; Казначеев и др., 1964, 1965; Инюшин и др., 1965; Марченко, 1973; Попп, Рут, 1977; Маковский, 1979; Попп, 1979].

Если признать, что в клетках существуют такого рода ЭМП, то при определенных условиях другие клетки, попадая под их влияние, воспринимают их как собственный атрибут жизни, собственную сигнально-информационную систему. Такое предположение в качестве рабочей гипотезы для объяснения наших опытов мы считаем в настоящее время наиболее приемлемым [Казначеев и др., 1964, 1965, 1979].

Действительно, «зеркальный» ЦПЭ проявляется лишь при использовании в качестве подложек кварцевых и слюдяных пластинок не толще 0,8 мм, а стеклянные подложки не эффективны. Взаимодействие осуществляется на достаточно большом расстоянии, разделяющем две культуры, и может быть обусловлено электромагнитным излучением УФ-диапазона. Вопрос об излучении в инфракрасном диапазоне (так как кварц прозрачен и в этой области электромагнитного спектра) требует специальных исследований и, на наш взгляд, представляет интерес, так как ИК-излучение отражает особенности поведения молекулярных структур и процессов на супрамолекулярном уровне, причем теоретически возможно [Винер, 1968] влияние излучения с частотами молекулярных спектров на процессы самосборки сложных молекул на генетических «матрицах». Как уже указывалось, часть информации о действии митостатических агентов передается в видимом диапазоне электромагнитного спектра. Эти факты позволяют предполагать, что различные частотные характеристики собственного электромагнитного излучения клеток содержат информацию о различных клеточных процессах. По мере разнесения культур, а также при постоянном утолщении кварцевых и слюдяных подложек эффективность связи падает; это свойственно общим закономерностям взаимодействия излучения и вещества (т. е. эффективность проявления «зеркального» ЦПЭ зависит от поглощения и рассеи-

вания энергии электромагнитной волны — посетителя информации.

Подтверждением электромагнитной природы связи клеток служит факт своеобразной кинетики изменения интенсивности излучения клеток культуры ткани, зараженных вирусом, зарегистрированной с помощью ФЭУ-39. Интенсивность излучения во времени коррелирует с фазами развития вирусной инфекции, форма кривой интенсивности излучения системы вирус—клетка обладает постоянством для каждой исследуемой группы вирусов (аденовирус, Коксаки А-13, миксовирусы) и, по-видимому, отражает закономерности взаимодействия вируса с чувствительной клеткой. Интенсивность излучения, зарегистрированная физическим детектором, оценивается приблизительно в $10-10^3$ квантов/см²·с, что соответствует потоку мощности в расчете на одну клетку порядка $10^{-10}-10^{-8}$ эрг/см²·с.

Совместно с Крымской астрофизической обсерваторией проведены исследования влияния гелиогеофизической обстановки на воспроизведение феномена дистантных межклеточных взаимодействий. По мнению Г. Ф. Плеханова, любые воздействия, если их интенсивность находится в диапазоне $10^{-9}-1$ эрг/см²·с, могут объективно восприниматься организмом, причем характер взаимодействий — информационный, а не энергетический [Плеханов, 1967]. На основании теоретических расчетов [Музалевская, 1973] показано, что биологическая активность возмущенного геомагнитного поля также имеет информационный характер. Сотрудником Крымской обсерватории Б. М. Владимирским исследована возможность влияния гелиомагнитной возмущенности на воспроизводимость феномена ДМВ. Полученные за 10 лет в нашей лаборатории данные о проявлении «зеркального» ЦПЭ в различное время года обработаны по планетарному индексу (A_p) и по знакам секторов межпланетного магнитного поля. При этом оказалось, что для экспериментов, в которых эффект ДМВ отсутствовал, A_p повышен и понижен для всех тех случаев, когда результат эксперимента положителен, т. е. «зеркальный» ЦПЭ проявляется в 70—80% камер детектора. В дни «удачных» экспериментов преобладают секторы отрицательной полярности (—) и секторы положительной полярности (+) межпланетного магнитного поля для отрицательных опытов. При анализе индекса вспышечной активности Солнца (F) установлено, что большие значения этого индекса имеют тенденцию сопутствовать «отрицательным» опытам, т. е. «зеркальный» ЦПЭ отсутствует. Это позволяет рассматривать явление межклеточных дистантных взаимодействий как перспективный и универсальный тест для выявления влияний гелио- и геомагнитных возмущений на биосистему.

Не касаясь физической стороны вопроса, требующей специальных физических исследований, мы вновь хотим вернуться к тому, что обнаруженное нами явление межклеточных электромагнитных взаимодействий между двумя клеточными культурами универсально и носит черты специфичности.

В настоящее время мы знаем, что необходимы определенные условия, при которых ДМВ осуществляется; существуют условия, которые усиливают проявление ДМВ и, наоборот, при которых феномен взаимодействия ослаблен или качественно изменен. Например, если культуру-детектор перед контактированием с культурой-индуктором облучить малой дозой ультрафиолетового излучения (15—20 с, лампа БУВ-30 на расстоянии 50 см), то эффективность проявления «зеркального» ЦПЭ возрастает до 99—100% случаев. При повышении температуры термостата до 38,5°, в котором проводится эксперимент, проявление «зеркального» ЦПЭ так же возрастает до 90% случаев (нормальная температура выращивания клеток 37°C). При таком же повышении температуры (1,5°) в контрольных парах камер спонтанной дегенерации не наблюдается.

Одним из существенных моментов воспроизведений «зеркального» ЦПЭ является вращение камер с культурами со скоростью 24—25 об/ч. Вращение сосудов при культивировании клеток с этой скоростью — оптимальный режим выращивания клеток вне организма. При такой скорости вращения барабана клетки в камерах равномерно омываются средой без гидродинамического воздействия, не подсыхают, на достаточное время соприкасаются с газовой фазой среды культивации, своевременно смываются с поверхности монослоя продукты метаболизма, тормозящие рост и деление клеток. Как отмечалось выше, нам не удалось заменить вращение другим способом оптимального культивирования культуры клеток при использовании камер разных конструкций. Вполне может быть, что это условие воспроизведения «зеркального» ЦПЭ каким-то образом связано с усилением сигнала, например, в момент смены культуральной среды кислородом воздуха. Такое предположение тем более вероятно, если в основе механизма взаимодействия рассматривать излучение. При использовании фотоэлектронного умножителя (ФЭУ-130) проведены предварительные исследования интенсивности излучения монослоя клеток 1) без каких-либо воздействий (контроль); 2) пораженного сулемой; 3) подвергавшегося периодическому вращению на нашем барабане со скоростью 25 об/ч; 4) пораженного различными дозами сулемы и одновременно периодически вращавшемся в барабане.

В первых трех случаях нам не удалось зарегистрировать излучение, интенсивность которого достоверно отличалась бы от уровня собственных шумов ФЭУ, при условии, что все эксперименты проводились в темноте, а монослой клеток предварительно 2 ч выдерживался в темном термостате. При освещении монослоя клеток накапунке опыта регистрировалось индуцированное светом послесвечение, аналогичное полученному ранее в экспериментах с помощью ФЭУ-42, поэтому при проведении дальнейших исследований непременным условием являлось отсутствие освещения. При вращении монослоя клеток перемещение камеры с клетками из измерительного блока ФЭУ в термостатируемый барабан произ-

водилось таким образом: 30 мин измерялась интенсивность излучения, а 30 мин камера вращалась на барабане (литературные данные и собственные измерения позволяют считать, что в течение 30 мин, которые уходят на вращение, не происходит существенного изменения интенсивности излучения клетки при наших условиях проведения экспериментов).

Интенсивность же излучения монослоя клеток, пораженных сулемой и периодически (через 30 мин) в течение получаса подвергавшихся вращению, на 100—150 % превышает уровень фона и собственных шумов ФЭУ-130. Причем результаты серии экспериментов позволяют судить о характере изменения интенсивности излучения в течение 8—12 ч после введения сулемы. Во всех опытах проводился морфологический контроль действия сулемы, а также контроль проявления сулемового «зеркального» ЦПЭ в культуре-детекторе (по обычной методике). Таким образом, изложенные данные позволяют считать вращение камер со скоростью 25 об/ч на эффект дистантных межклеточных взаимодействий одним из необходимых условий проведения экспериментов.

Ранее нами показано, что проявление феномена дистантных межклеточных взаимодействий существенно зависит от дозы агента, вызывающего цитопатическое действие; при использовании вируса в оптимальном титре (10^{-3} — 10^{-4}) «зеркальный» ЦПЭ получали в 70—80 % случаев, при массивном заражении (титр 10^{-2}) — 20 %, при титре вируса 10^{-1} он не проявляется. Это позволило предположить, что излучение претерпевает, по-видимому, качественное изменение; действительно, применяя ФЭУ-130, удалось отметить зависимость изменения интенсивности излучения монослоя клеток от дозы токсического агента — сулемы (измерение производилось при периодическом вращении и отсутствии индуцированного послесвечения монослоя клеток). При использовании дозы сулемы 8—10 γ /мл, вызывающей гибель клетки в течение первых же часов поражения, интенсивность излучения превышает уровень фона в 3—4 раза, резко возрастая сразу после введения сулемы и убывая до уровня фона за 3—5 ч. При использовании же сулемы в дозе 4—5 γ /мл, которая вследствие блокады дыхательных ферментов приводит к гибели клеточного монослоя через 2—3 сут, интенсивность излучения возрастает в 1,5—2 раза и сохраняется в течение 8—12 ч, т. е. возможно качественное изменение интенсивности излучения в диапазоне чувствительности ФЭУ-130. В модели ДМВ, в которой мы добиваемся изменения функционального состояния культуры-индуктора (метафазный блок), по всей вероятности, наблюдается также качественное изменение излучения, так как передача информации касается не гибели, а торможения деления клеток, т. е. в «зеркальной» культуре повторяются принципиально отличные от гибели сдвиги.

Для воспроизведения «зеркального» ЦПЭ необходимо контактировать пораженную культуру с интактной не менее 4—6 ч. После этого культуру можно разъединять, но в «зеркальной» тканевой

культуре пройдет цитопатическая волна со всеми характерными эволютивными морфологическими признаками «зеркального» ЦПЭ. Однако масштаб «зеркальной» дегенерации при этом ограничен, и по истечении 2—3 сут после разъединения монослоев восстанавливается, а дегенерировавшие клетки исчезают в результате лизиса.

Интересен тот факт, что минимальное время контакта, необходимое для воспроизведения «зеркального» ЦПЭ и равное 4—6 ч, совпадает с периодом, необходимым для синтеза вирусной м-РНК в инфицированной клетке, и с периодом развития наранекроза (по тесту гранулообразования) в клетках при отравлении сулемой.

Можно думать, что механизмы, запускающие «зеркальный» ЦПЭ, формируются в течение 4—6 ч воздействия агента на клетку. Однако этого времени контакта пораженной и интактной культуры недостаточно для обратимой «зеркальной» деструктивной реакции. Для того чтобы «зеркальный» ЦПЭ проявился в полной мере, необходим постоянный контакт пораженной и непораженной ткани. Это положение подтверждается запаздыванием развития выраженных морфологических критериев «зеркального» ЦПЭ по отношению к истинному. В наших предварительных исследованиях по накоплению флюорохрома акридина оранжевого (АО) в клетках, отражающего проницаемость лизосомных мембран, было показано, что уже через 2 ч после начала вращения в барабане контактирующих камер-индукторов и детекторов излучения количество АО, накопленного в лизосомах клетки «зеркальной» камеры (детектора), измеренного по интенсивности люминесценции красителя, на $61 \pm 10\%$ превышало количество красителя, накопленного в лизосомах контрольных клеток. При этом реакция клеток «зеркальной» культуры была общей, т. е. все клетки монослоя обладали одинаковой способностью накапливать краситель в лизосомах. Затем это отличие уменьшалось, и через 24 ч контакта накопление красителя в «зеркальных» и контрольных камерах достоверно не отличалось в течение следующих 24 ч и вновь изменялось к 72 ч, резко (на 300%) возрастая в тех камерах, где начинается специфическая дегенерация клеток монослоя и проявляется «зеркальный» ЦПЭ. В тех камерах, где накопление АО достоверно не отличалось от контроля, «зеркальный» ЦПЭ не наблюдался.

В развитии «зеркального» цитопатического эффекта большое значение имеет количество пораженных клеток в культуре-индукторе, испускающих излучение, и количество клеток в культуре-детекторе, воспринимающих сигнал и, по всей видимости, вторично излучающих его. Последнее установлено в опытах с перепассажем «зеркального» эффекта, когда после контакта камеры индуктора и детектора в течение 18—20 ч «зеркальная» камера применялась в качестве индуктора, т. е. вновь соединялась с незагрязненной камерой-детектором.

При этом наблюдался специфический морфологический отклик в каждой последующей «зеркальной» камере, но он постепенно

угасал к третьему — четвертому пассажи. Процент проявления дистантных межклеточных взаимодействий в таких пассажах падает до 20—30% случаев из 100.

Однако остается ряд неясных положений и спорных вопросов. Так, возникает вопрос о биологическом смысле описанного явления. Почему все же пораженные экстремальными агентами клетки индуцируют поражение в клетках здоровых, а не наоборот — здоровые клетки не оказывают влияния на зараженные культуры? Мы полагаем, такой механизм мог бы иметь биологическое объяснение, если думать, что экстремальный агент, вызывающий цитопатическую реакцию в клетке, лишился бы возможности дальнейшего распространения в окружающие клеточные структуры потому, что в окружающей зоне клетки опережающие поражаются бы за счет электромагнитного сигнала. Вирусная инфекция, например, при этом оказалась как бы блокированной окружающей ее сферой нежизненного материала, в котором существование вируса невозможно. В экспериментальных условиях «зеркальный» эффект в тканевых культурах может быть и отражает в некотором искаженном виде такую биологическую «целесообразность». Ясно, что в таком толковании есть много спорного и неясного. Почему же «зеркальный» ЦПЭ при последовательных пассажах затухает? Что его задерживает? Не ясен интимный биофизический механизм самого эффекта. Не исключена возможность, что появление некой критической массы погибших клеток вокруг вирусного локуса имеет значение для реализации противовирусной защиты на организменном уровне, так как на уровне пресмыкающиеся — млекопитающие принципиально новых иммунных механизмов не известно, скорее всего можно полагать, что и реализация обратной связи, т. е. защитные противовирусные факторы в организме, наряду с хорошо изученными должна иметь иную неизвестную пока природу.

Нельзя упускать из виду предпосылки поставленного эксперимента: в качестве объекта, на котором тестировался описанный эффект, избрана культура ткани — ассоциация клеток, лишенная сложных интегративных влияний нервной и гормональной системы, иммунологического аппарата. Такая ассоциация может помочь обнаружить тонкие регуляторные механизмы, скрытые под покровом поздних эволюционных наслоений. Однако она же оказывается несостоятельной при встрече с сигналом, запускаящим неадекватную реакцию, по остающейся в рамках сложившихся привычных взаимоотношений.

Возможно также предположение, что описанное нами явление составляет лишь одно из проявлений сложных регуляторных механизмов биологических систем и отражает наиболее глубокие свойства живого вещества в целом и те свойства, которые лежат в основе происхождения жизни, развития биосферы как сложной биологической системы планетарного и космического масштаба.

Итак, описан ряд условий возникновения феномена взаимодействия двух тканевых культур, связанных оптическим контактом. Совокупность этих условий в сочетании с универсальностью явления и его специфичностью для каждого из экстремальных факторов достаточно убедительно свидетельствует о том, что эффект взаимодействия не может быть артефактом. Многие в механизме этого явления пока остаются неясным. Нами экспериментально установлено неизвестное ранее явление дистантных межклеточных электромагнитных взаимодействий между двумя культурами ткани при воздействии на одну из них факторов биологической, химической или физической природы с характерной реакцией другой (интактной) культуры в виде «зеркального» ЦИЭ, что определяет клеточную систему как детектор модуляционных особенностей электромагнитных излучений. Первостепенная задача наших дальнейших исследований — изучение механизмов обнаруженного явления ДМВ. Излагая в этой книге полученные нами факты и некоторые рабочие гипотезы, нам очень хотелось привлечь внимание различных специалистов: биологов, медиков и особенно физиков и химиков к проблеме электромагнитных взаимодействий в живой системе. Дальнейшие исследования могут привести к новым идеям и новаторским приложениям в широкой области медико-биологических исследований.

Значение этих исследований может быть в области изыскания средств воздействия на патологические процессы через коррекцию помех, возникающих в фотонном канале передачи информации. Роль такого рода помех, по-видимому, особенно велика при таких патологических процессах, как вирусная инфекция, лучевые поражения, злокачественный рост, старение. Перспективность изыскания такого рода средств воздействия может быть связана с соединениями, преобразующими собственное излучение клетки. Первые шаги в этом направлении сделаны в лаборатории биофизики в г. Шумене (Болгария); М. И. Ямбастиевым с сотрудниками показано, что фармакологическое действие некоторых препаратов (невролептиков) коррелирует с их адсорбционными спектрами в УФ-диапазоне [Ямбастиев и др., 1977]. Получены предварительные результаты применения препаратов с определенным спектром поглощения в клинической практике [Ямбастиев, 1976].

Можно думать, что терапевтическая эффективность ряда лекарственных средств связана с их способностью преобразовывать или «гасить» собственное излучение клеток больного организма. Направленные поиски в этом аспекте помогут создать новые принципы профилактики и лечения, так как заболевания можно в более широком плане попятить в рамках электромагнитных взаимодействий в организме [Шопп, 1979].

Уже сегодня, исходя из предпосылок об электромагнитном взаимодействии живых растений, белорусские лесоводы, используя энергетическую модель биологического поля, производят оптимальный отбор деревьев в рубку при уходе за лесом, оценивая

ют жизнеспособность при различных режимах выращивания и т. д. [Марченко, 1973, 1975, 1978].

В заключение нам хочется еще раз повторить, что проблемы передачи биологической информации, записи и хранения ее как в клетках, так и между клеток и органов в настоящее время приобретают первостепенное значение. К сожалению, часто встречается односторонняя трактовка «излучательных» свойств живой материи, когда электромагнитные излучения рассматриваются почти исключительно с энергетических позиций; при этом невозможность передачи информации с помощью эмиттированных биосистемами фотонов обосновывается низкой интенсивностью излучения. В связи с этим хочется вспомнить слова, написанные более десяти лет назад: «Биология имеет дело с системами куда более сложными, чем те, которыми пользуются физики для проверки своих теорий. Организмы, достигшие в своей эволюции высочайшей организации и тончайшей внутренней регуляции, неизмеримо сложнее самых сложных из созданных человеком автоматических систем. Но странно: в то время, как в технике стало уже совершенно привычным видеть, как ничтожный по своей мощности управляющий сигнал приводит в действие гигантские потоки энергии, в биологии такую возможность многие продолжают считать невероятной» [Чижевский, Шишина, 1969, с. 10].

Управление известными обменно-трофическими процессами, преобладающими как внутри клеток, так и в целом организме животных и человека, невозможно объяснить только нейрогормональными и гуморальными (биохимическими), а также известными биофизическими факторами (изменение различных потенциалов и градиентов и др.). Необходимы поиски иных, более эффективных каналов связи.

Наши наблюдения о роли электромагнитных полей в передаче биологической информации в системе клетка — клетка дают основание высказать предположение, что чисто химический механизм этой связи может быть не первичным, а есть следствие более сложных полевых процессов, которые по существу и представляют собой истинный механизм передачи информации структуры внутри клетки. В таком случае функционирующая клетка является источником и носителем сложного электромагнитного поля, структура которого, сама порождаясь биохимическими процессами, постоянно направляет и управляет всей метаболической деятельностью клетки. В таком понимании, с одной стороны, клетка — это сложный биохимический комплекс, с другой — электромагнитное поле, т. е. клетка — это поле, порожденное обменом веществ, и обмен, порожденный полем.

Агол В. И. Взаимодействие вируса и клетки. Биосинтез вируса.— В кн.: Молекулярные основы биологии вирусов. М., Наука, 1966, с. 177—291.

Александров В. Я. Клетки макромолекулы и температура. М., 1973.
Аллабутова К. А., Васильев Р. Ф., Вичутицкий П. А., Русина И. Ф. Механизм хемилюминесценции окислительных реакций в растворе.— В кн.: Биоломинесценция. М., 1965, с. 8—19.

Алов И. А. Определение митотического режима ткани в патологической диагностике предраковых процессов и рака. М., 1973.

Алов И. А., Брауде А. И., Аспиз И. Е. Основы функциональной морфологии клеток. М., Медицина, 1969. 343 с.

Алтынков Г. П. Дистантный квантовый взаимодействия между лимфоцитами.— Мед. арх., 1976, т. 14, № 4, с. 13—19.

Алтынков Г. П. Информационная роль на сверхслабом свете на клеткатах in vitro.— В кн.: Матер. I общед. научн. сессия на млад. научн. работници. Варна, 1974.

Алтынков Г. П., Нечаев Н., Ямбаев М. И. Диагностическая стойкость на спектральный метод при излучении на единичный случай от миозитиса осификация прогрессирующей мультимикс.— В кн.: Сборник научн. трудов на секции по медицине и микробиологии при съезда на научн. работници. Година 1. Кн. 1. Част 2. Варна, 1977, с. 293—295.

Анджапаридзе О. Г., Богомолова Н. И. Взаимодействие вируса клещевого энцефалита с восприимчивыми клетками. Сообщ. 4. Фазы развития вируса в однослойных культурах.— Вопр. вирусол., 1962, № 1, с. 35—38.

Анджапаридзе О. Г., Богомолова Н. И., Рапопорт Р. И. Сравнительная чувствительность клеток первичных культур различных тканей эмбриона свиньи к деструктивному действию вируса клещевого энцефалита.— Вопр. вирусол., 1963, № 5, с. 534—539.

Ариавский И. А. Попытка физиологического понимания и анализа факторов формообразования на ранних стадиях онтогенеза в свете учения Введенского—Ухтомского.— Вестн. ЛГУ, 1947, № 12, с. 47—51.

Аспиз М. Е. Формирование митотического аппарата и патологии митоза нормальных и опухолевых клеток. Автореф. докт. дис. М., 1974.

Барбой В. А. Солнечный луч. М., 1976. 241 с.

Баренбойм Г. М., Даманский А. Н., Туроверов К. К. Люминесценция биополимеров и клеток. М., 1966. 233 с.

Барт Г. Физическое исследование к вопросу о проблеме митотического излучения.— Арх. биол. наук, 1937, т. 46, № 1.

Бауэр Э. С. Общая теория живой материи. Проблема «живого белка».— Арх. биол. наук, 1934, т. 35, сер. «А», вып. 1, с. 1—57.

Бауэр Э. С. Противоречие между внешней и внутренней работой живых систем.— Арх. биол. наук, 1934, т. 35, сер. «А», вып. 1, с. 37—52.

- Бауэр Э. С. Теоретическая биология. М., 1935, 206 с.
- Белоусов Л. В. Поля и клеточные взаимодействия в морфогенезе.— В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 164—182.
- Бернет Ф. Целостность организма и иммунитет. М., 1964.
- Бернет Ф. Клеточная иммунология. М., 1971.
- Берстон М. Гистохимия ферментов. М., 1965.
- Блюмкин В. М., Жданов В. П. Влияние вирусов на хромосомный аппарат и деление клеток. М., 1973, с. 216—217.
- Божкова В. П., Бойцова Л. Ю., Ковалев С. А. и др. Высокая проницаемость контактных мембран — возможный механизм межклеточного взаимодействия.— В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 183—194.
- Брайнес С. П., Суслев А. И. Информационные процессы в аспекте биокибернетики.— Экспер. хирургия и анестезиол., 1964, № 2, с. 13—19.
- Бриллоэн Л. Наука и теория информации. М., 1960.
- Бузинков Г. И. Низкомолекулярные регуляторы зародышевого развития. М., 1967.
- Бузинков Г. А. Низкомолекулярные физиологические активные вещества в регуляции первых делений дробления.— В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 150—164.
- Букринская А. Г., Ершов Ф. П., Жданов В. М. Люминесцентно-микроскопическое изучение клеток культуры ткани в начальной фазе взаимодействия с вирусом Сендай.— Вопр. вирусол., 1962, № 1.
- Букринская А. Г., Жданов В. М., Раменская Г. П. Автографическое проникновение изученно вируса Сендай в клетку.— Вопр. вирусол., 1961, № 6, с. 547—550.
- Бутусов К. П. К вопросу о цикличности солнечной активности.— В кн.: Солнце, электричество, жизнь. М., 1972, с. 33—35.
- Васильев Р. Ф. Люминесценция при химических реакциях в растворах. Автореф. докт. дис. М., 1963.
- Васильев Ю. М., Маленков А. Г. Клеточная поверхность и реакции клеток. Л., 1968.
- Вейс П. Взаимодействие между клетками.— В кн.: Современные проблемы биофизики. Т. 2. М., 1961, с. 176—184.
- Вернадский В. И. Размышление натуралиста. Т. 1. Пространство и время в неживой и живой природе. М., 1975.
- Вернадский В. И. Размышление натуралиста. Т. 2. Научная мысль как планетное явление. М., 1976.
- Вернадский В. И. Избранные сочинения. М., 1960.
- Веселовский В. А., Секамова Е. П., Тарусов Б. П. К вопросу о механизме сверхслабой спонтанной люминесценции организмов.— Биофиз., 1963, т. 8, вып. 1, с. 125—129.
- Винер Н. Кибернетика. М., 1968.
- Владимиров Ю. А. О механизме сверхслабых свечений в биологических системах.— В кн.: Биоллюминесценция. М., 1965, с. 51—59.
- Владимиров Ю. А. Сверхслабые свечения при биохимических реакциях. М., 1966. 101 с.
- Владимиров Ю. А. Сверхслабые свечения субклеточных структур.— В кн.: Тезисы симпозиума «Сверхслабые свечения в биологии». М., 1969.
- Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М., 1972. 252 с.
- Владимиров Ю. А., Львова О. Ф. Сверхслабое свечение и окислительное фосфорилирование в митохондриях.— Биофиз., 1964, т. 9, вып. 4, с. 506—507.
- Владимиров Ю. А., Литвин Ф. Ф., Тянь Мань-Ци. К вопросу о роли возбужденных состояний в природе сверхслабых свечений в биологических системах.— Биофиз., 1962, т. 7, вып. 5, с. 675—679.

Владимиров Ю. А., Роцупкин Д. Н. Действие УФ-излучения на мембранные структуры клеток.— В кн.: Биологическое действие ультрафиолетового излучения. М., 1975, с. 31—39.

Владимиров Ю. А., Суслова Т. Б., Черемисина З. П. Хемилюминесценция митохондрий, не связанная с процессами окислительного фосфорилирования.— Биохим., 1968, т. 33, вып. 4, с. 720—725.

Владимиров Ю. А., Суслова Т. Б., Оленев Е. И., Черемисина З. П. Хемилюминесценция, сопряженная с образованием липидных перекисей в митохондриях.— В кн.: Митохондрии. М., 1969, с. 203—207.

Владимиров Ю. А., Малюгин Э. Ф., Шаров А. П. Хемилюминесценция плазмы крови в присутствии ионов двухвалентного железа.— Биофиз., 1973, т. 18, вып. 1, с. 148—151.

Владимирский Б. М. Активные процессы на Солнце и биосфера.— Изв. АН СССР. Сер. физ., 1977, т. 41, № 2, с. 403—411.

Владимирский Б. М., Ачкасова Ю. Н., Монастырских Л. В. Возмущения электромагнитного поля Земли и проблема гелиобиологических связей.— В кн.: Солнце, электричество, жизнь. М., 1972, с. 54—56.

Владимирский Б. М., Вольнский А. М. Воздействие электромагнитных полей с напряженностью, близкой к естественной, на физико-химические и биологические системы.— В кн.: Физико-математические и биологические проблемы действия электромагнитных полей и ионизации воздуха. Т. 1. М., 1975, с. 26—38.

Воронкова Л. И., Сахаров В. И. Относительная роль поражения ядра и цитоплазмы в подавлении деления и отдаленной гибели клеток культуры ткани после УФ-облучения.— В кн.: Биологическое действие ультрафиолетового облучения. М., 1975, с. 62—84.

Ворошилова М. К. Энтеровирусные инфекции человека. М., 1979. 359 с.

Вязов О. Е. Иммунология эмбриогенеза. М., 1962.

Гайдамович С. Н. Обнаружение вируса клещевого энцефалита в культуре ткани методом флюоресцирующих антител.— Вопр. вирусол., 1961, № 4, с. 399.

Гасанов Р. А., Мамедов Т. Г., Тарусов Б. И. О взаимосвязи сверхслабой хемилюминесценции и жароустойчивости растительных организмов.— Докл. АН СССР, 1963, т. 153, № 4, с. 913—914.

Гасанов Р. А., Мамедов Т. Г., Тарусов Б. И. Спонтанное и индуцированное свечение растительных организмов.— В кн.: Биолюминесценция. Т. 21. М., 1965, с. 64—69.

Гительзон И. И. Соотношение биолюминесценции и хемилюминесценции биологических субстратов.— В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 194—196.

Горбунова А. С. Материалы по изучению этнологии гриппа.— Вопр. вирусол., 1960, № 6, с. 643.

Григорьев В. И., Мякишев Г. Я. Силы в природе. М., 1977. 415 с.

Гурвич А. А. Связь проблемы митотического излучения с современными направлениями биофизических исследований.— Биофиз., 1965, т. 10, вып. 4, с. 619—624.

Гурвич А. А. Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии. Л., 1968. 240 с.

Гурвич А. А., Еремеев В. Ф. Митогенетическое излучение как хемилюминесценция. Соотношение в живых системах процессов флюоресценции и процессов аналогичных фосфоресценций.— В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 135—141.

Гурвич А. А., Еремеев В. Ф., Карабчиевский Ю. А. Измерение митогенетического излучения дрожжевых культур на фотоэлектронных умножителях.— Докл. АН СССР. Сер. биол., 1968, т. 178, № 6, с. 1432—1435.

Гурвич А. А., Еремеев В. Ф., Карабчиевский Ю. А. Регистрации митогенетического излучения сердца животных в опытах in vitro при помощи фотоэлектронного умножителя.— Докл. АН СССР. Сер. биол., 1970, № 4, с. 972—973.

Гурвич А. А., Еремеев В. Ф., Карабчиевский Ю. А. Энергетические основы митогенетического излучения и его регистрации на фотоэлектронных умножителях. М., 1974. 95 с.

Гурвич А. Г. Теория биологического поля. М., 1944. 155 с.

Гурвич А. Г. Понятие «целого» в свете теории биологического поля.— В кн.: Работы по митогенезу и теории биологического поля. М., 1947, с. 141—147.

Гурвич А. Г., Гурвич Л. Д. Митогенетическое излучение, физико-химические основы и приложения в биологии и медицине. М., 1945. 283 с.

Гурвич А. Г., Гурвич Л. Д. Введение в учение о митогенезе. М., 1948, 144 с.

Гурвич А. Г., Залкинд С. Я., Песочинский Б. С. Учение о раковом тумане. М., 1947. 100 с.

Данилов В. И. О возможном механизме действия электромагнитных полей в биосфере Земли.— В кн.: Физико-математические и биологические проблемы действия электромагнитных полей и ионизации воздуха.— В кн.: Материалы Всесоюзного научно-технического симпозиума. Т. 1. М., 1975, с. 126—150.

Данилов В. И., Федоренко Б. С., Говорун Г. Д. и др. Влияние медленно меняющегося во времени магнитного поля на организм животных.— В кн.: Магнитные поля и медицина. Фрунзе, 1971, с. 84—89.

Де Робертис Э., Новицкий В., Сазе Ф. Биология клетки. М., 1973.

Дрейзин Р. С. Аденовирусы.— В кн.: Руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. М., 1966, с. 80—93.

Дубров А. П. Влияние природных электрических и магнитных полей на проницаемость биологических мембран.— В кн.: Материалы II Всесоюзного симпозиума по изучению влияния магнитных полей на биологические объекты. М., 1969, с. 79—84.

Дубров А. П. Геофизические факторы и динамика выделения органических веществ корнями растений.— В кн.: Проблемы космической биологии. Т. 18. М., 1973, с. 67—96.

Дубров А. П. Геомагнитное поле и жизнь. Л., 1974. 175 с.

Елифанова О. Н. Предисловие.— В кн.: Клеточный цикл. М., 1973, с. 5—8.

Елифанова О. Н., Смоленская И. Н., Севостьянова М. В. и др. Исследование закономерностей синтеза РНК и белка в митотическом цикле с помощью специфических ингибиторов. Протекающие митозы и вступление клеток в период следующего митотического цикла.— Цитол., 1967, № 11, с. 1332—1339.

Жданов В. М., Азарова Н. Б., Букринская А. Г. Изучение взаимодействия вируса Сендай с клетками культуры ткани с помощью метода флуоресцирующих антител.— Вопр. вирусол., 1962, № 2, с. 162.

Жданов В. М., Букринская А. Г., Раменская Г. П. Локализация внутриклеточного синтеза РНК вируса Сендай.— Вопр. вирусол., 1963, № 5.

Жданов В. М., Букринская А. Г. Репродукция миксовирусов. М., 1969, 184 с.

Жданов В. М., Букринская А. Г. Механизм воздействия вируса с клеткой.— В кн.: Руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. М., 1962, с. 76—382.

Жданов В. М., Гайдомович С. Я. Вирусология. М., 1966.

Журавлев А. И. Предисловие.— В кн.: Биоломнинесценция. М., 1965.

Журавлев А. И. Биоантиокислители и их роль в регуляции окислительных процессов.— В кн.: Физиохимические основы авторегуляции в клетках. М., 1968, с. 7—14.

Журавлев А. И. Сверхслабые свечения и антиокислительные свойства биосубстратов. М., 1965.

Журавлев А. И., Веселовский В. А. Живое свечение. М., 1963.

Журавлев А. И., Журавлева А. И. Сверхслабое свечение сыворотки крови и его значение в комплексной диагностике. М., 1975, с. 127.

Журавлев А. И., Поливода А. И., Тарусов Б. Н. Механизм и активации радикалов и перекисей естественными тканевыми антиоксидантами. Радиобиол., 1961, т. 1, № 3, с. 321—325.

Журавлев А. И., Тарусов Б. Н. О механизмах защитного антиоксидантного действия некоторых серосодержащих соединений.— Радиобиол., 1962, т. 2, № 2, с. 177—181.

Журавлев А. И., Филиппов Ю. И., Симонов В. В. Хемилюминесценция и антиоксидантные свойства липидов человека.— В кн.: Биолуминесценция. М., 1965, с. 75—90.

Зильбер Л. А., Абелев Г. И. Вирусология и иммунология рака. М., 1962. 458 с.

Залкинд С. В. Жизнь клеток вне организма. М., 1962. 132 с.

Иберт Дж. Взаимодействующие системы в развитии. М., 1968.

Иванов И. И., Петрусович Ю. М., Тарусов Б. И. Регулирование уровня эндогенных антиоксидантов в процессе злокачественного роста.— В кн.: Физико-химические основы авторегуляции в клетках. М., 1965.

Иванова Г. А., Сафонов Г. П., Сюрин В. И. Вирус классической чумы птиц.— В кн.: Руководство по ветеринарной вирусологии. М., 1966.

Иппошин В. М. Концепция биологической плазмы и некоторые вопросы фотобиоэнергетики.— В кн.: Вопр. биоэнергетики. Алма-Ата, 1968.

Исхаков В. М. К проблеме влияния солнечной активности на психические заболевания.— В кн.: Солнце, электричество, жизнь. М., 1972, с. 70—71.

Ичас М. Биологический код. М., 1971.

Казначеев В. П. Информационная функция сверхслабых потоков в биологических системах.— В кн.: Материалы конференции «Физико-математические методы исследования в биологии и медицине». Новосибирск, 1965, с. 38—41.

Казначеев В. П. Информационная функция сверхслабых световых потоков в биологических системах.— В кн.: Вопросы биофизики. Новосибирск, 1967, с. 7—18.

Казначеев В. П., Игнатович Н. В., Шурин С. П. О межклеточных дистантных взаимодействиях в системе двух тканевых культур, связанных оптическим контактом.— В кн.: Сверхслабые свечения в биологии. М., 1969.

Казначеев В. П., Иванов Г. К., Казанина С. С. и др. О роли сверхслабых световых потоков в биологических системах.— В кн.: Биоэнергетика и биологическая спектрофотометрия. М., 1967, с. 80—85.

Казначеев В. П., Каменская В. В., Куликова Л. А. и др. Сверхслабые свечения при некоторых рецитирующих реакциях.— В кн.: Вопросы биофизики. Новосибирск, 1967, с. 38—42.

Казначеев В. П., Кузнецов П. Г., Субботин М. Я. Перспективы изучения биологической информации в системе соединительной ткани и ее взаимоотношения с другими тканевыми системами.— В кн.: Механизмы склеротических процессов и рубцевания. Новосибирск, 1964, с. 49—63.

Казначеев В. П., Кузнецов П. Г., Шурин С. П. и др. Некоторые проблемы квантовой биологии и вопросы передачи информации в биологических системах.— Автометрия, 1965, № 2, с. 3—10.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Стефанов С. Б. и др. Исследование поведения клеточного мополося и межклеточных дистантных взаимодействий в условиях высоких широт.— В кн.: Научно-технический прогресс и приполярная медицина. Новосибирск, 1978, с. 133—134.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Сударев В. И. и др. Исследование биологической роли собственных электромагнитных излучений как фактора адаптивного поведения клеток в условиях широтных перемещений.— В кн.: Тезисы докладов II Всесоюзной конференции по адаптации человека к различным географическим, климатическим и производственным условиям. Новосибирск, 1977, с. 101—104.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Сударев В. Н. и др. Дистантные межклеточные взаимодействия, вызываемые УФ-излучением.— В кн.: Фотобиология животной клетки. М., 1979, с. 221—223.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Радаева И. Ф., Иванова М. П. Условия возникновения дистантных межклеточных взаимодействий при УФ-радиации.— Бюл. eksper. биол. и мед., 1979, т. 37, № 5, с. 468—471.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Шурин С. П. Значение сверхслабых световых потоков в механизме цитопатического действия вирусов.— В кн.: Труды 9-го Международного конгресса по микробиологии, вирусологии, эпидемиологии. М., 1966.

Казначеев В. П., Михайлова Л. П., Шурин С. П. О межклеточных дистантных взаимодействиях в системе двух тканевых культур, связавших оптический контакт.— В кн.: Управляемый биосинтез и биофизика популяций. Красноярск, 1969, с. 372—374.

Казначеев В. П., Субботин М. Я. Этюды общей патологии. Новосибирск, 1971. 229 с.

Казначеев В. П., Шурин С. П., Михайлова Л. П. Информационная роль сверхслабых световых потоков в биологических системах. (Сверхслабые световые потоки в механизмах ЦПД вируса Коксаки А-13.— В кн.: Вопросы биофизики. Новосибирск, 1967, с. 20—25.

Казначеев В. П., Шурин С. П., Михайлова Л. П. Открытие № 122. Дистантные межклеточные взаимодействия в системе двух тканевых культур.— Офиц. бюл. Комитета по делам изобретений и открытий при Совете Министров СССР, 1973, № 19, с. 3.

Казначеев В. П., Шурин С. П., Михайлова Л. П., Игнатович И. В. О межклеточных дистантных взаимодействиях в системе двух тканевых культур, связанных оптическим контактом.— В кн.: Сверхслабые свечения в биологии. М., 1972, с. 224—227.

Казначеев В. П., Шурин С. П., Михайлова Л. П. и др. Влияние культуры ткани, зараженной вирусом классической чумы птиц, на «зеркальную» интактную культуру.— В кн.: Полупроводниковые термочувствительные сопротивления в биологии и медицине. Новосибирск, 1966.

Калецко Г. С. О возможности адаптационного синдрома-стресса на клеточном уровне и его роли в реакции клетки на облучение.— Усп. совр. биол., 1972, т. 73, вып. 1, с. 59—80.

Клеточный цикл (Проблемы регуляции)/Под ред. Енифановой О. Н. М., 1973. 190 с.

Клипсон Н. А., Мамедов Г. Г., Тарусов Б. П. Люминесцентный метод исследования свободнорадикальных состояний.— В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 107—111.

Козелки В. В., Усольцев И. Ф. Основы инфракрасной техники. М., 1967.

Кольцов Н. К. Организация клетки. М.—Л., 1936.

Конев С. В. К вопросу о природе и биологическом значении сверхслабых свечений клетки.— В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 181—183.

Конев С. В. Межклеточные контакты. Минск, Наука и техника, 1977.

Конев С. В., Аксеев С. А., Черницкий Е. А. Кооперативные переходы белков в клетке. Минск, 1970.

Козлов Ю. П. Информационная роль сверхслабых свечений при развитии злокачественных новообразований.— В кн.: Тезисы симпозиума «Сверхслабые свечения в биологии». М., 1969.

Копылов В. А. Нарушение структурной организации ферментов в облученных клетках как один из возможных молекулярных механизмов усиления эффекта действия ионизирующего излучения.— В кн.: 4-й Международный биофизический конгресс. М., 1972, с. 296—297.

Копылов В. А., Король Б. А. О механизме опосредованного действия УФ-излучения на гепатические структуры животных.— В кн.: Ультрафиолетовое излучение и его применение в биологии. Пущино-на-Оке, 1973, с. 53—54.

Косицкий Г. И., Ревич Г. Г. Креаторная связь и ее роль в организации многоклеточных систем. М., 1975. 124 с.

Кузин А. М., Юсипов П. И. Радиочувствительность различных стадий развития *Ephesia Ruschella* L. в свете представлений о трансдукции ДНК. — Радиобиол., 1967, т. 7, вып. 1, с. 3—7.

Кузин Е. Т. Ультрафиолетовые кванты в механизме метаболических реакций. — В кн.: Материалы научной сессии Института физиологии АН БССР, посвященные 40-летию Белорусской ССР. Минск, 1959, с. 128—130.

Кузин Е. Т. Зависимость авторегуляции функций одноклеточных организмов (парамеций) от концентрации клеток и частоты электромагнитного поля. — В кн.: Физико-химические основы авторегуляции в клетках. М., 1968, с. 106—112.

Кузин Е. Т. Влияние лучевого взаимодействия клеток на внутриклеточные гликолитические процессы. — В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 196—197.

Лабораторная диагностика вирусных болезней животных/Под ред. Сюрина В. П. М., 1972.

Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1973. 343 с.

Лебедев Д. С., Левитина Л. К. Теория передачи. М., 1964.

Леванов В. С., Данилов В. И., Давыдова М. Т. и др. Влияние медленно меняющихся во времени магнитных полей на продукцию фага λ -лизогенными бактериями *E. coli* к 12 (λ). — Микробиол., эпидемиол. и иммунобиол., 1974, № 2.

Лизнер Л. Д. Клеточное обновление. М., 1966. 270 с.

Лизнер Л. Д. Изменение тканей и регенерация органов. М., 1970. 48 с.

Лопашов Г. В., Хоперская О. А. Пронхождение и способы распределения индуцирующих агентов в развитии. — В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 52—65.

Лопашов Г. В., Хоперская О. А. Биология развития и проблема восстановления органов. М., 1979. 64 с.

Маковски Е. Природа и структура живой материи. Бухарест, 1976. 210 с.

Мак Элрой В., Селиджер Г. Пронхождение и эволюция биолюминесценции. — В кн.: Эволюционная биохимия. М., 1962, с. 161—180.

Мамедов Т. Г. Корреляция интенсивности слабой биолюминесценции с реакциями метаболизма клетки. — В кн.: Физико-химические основы авторегуляции в клетках. М., 1968, с. 93—97.

Мамедов Т. Г. Сверхслабое излучение клеток при раздражении. — В кн.: Физико-химические аспекты возбуждения и проведения. М., 1970, с. 86—91.

Мамедов Т. Г., Попов Г. А., Конев С. В. К механизму сверхслабых свечений клеток. — В кн.: Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве. М., 1971, с. 52—54.

Марголис М. Б. Синхронизация процессов в клеточном цикле. — Цитол., 1970, т. 12, № 6, с. 697—712.

Марченко И. С. Биополе лесных экосистем. Брянск, 1973.

Марченко И. С. К вопросу о взаимодействии древесных растений. — Лесное хоз-во, 1975, № 12.

✓ Марченко И. С. Влияния растений через излучения. Брянск, 1978.

Михайлова Л. П., Казначеев В. П., Шурип С. П. и др. Информационная роль сверхслабых световых потоков в биологических системах (сверхслабые световые потоки в механизме цитонатического действия вируса классической чумы птиц — FPPV). Сообщение II. — В кн.: Вопросы биофизики. Новосибирск, 1967, с. 25—30.

Михайлова Л. П., Казначеев В. П., Шурип С. П. и др. Информационная роль сверхслабых световых потоков в биологических системах (сверхслабые световые потоки в механизме цитонатического действия судомы). Сообщение III. — В кн.: Вопросы биофизики. Новосибирск, 1967, с. 28—30.

Музалевская Н. И. Характеристика возмущенного магнитного поля как раздражителя. — В кн.: Проблемы космической биологии. Т. 18. М., 1973, с. 123—143.

- Мостовников В. А., Хохлов И. В.** Взаимодействие клеток человека с помощью электромагнитных волн оптического диапазона. Минск, 1977.
- Насонов Д. И.** Некоторые вопросы морфологии и физиологии клетки. М.—Л., 1963.
- Насонов Д. И., Александров В. Я.** Реакция живого вещества на внешние воздействия. М.—Л., 1940.
- Насонов Д. И.** Местная реакция на распространение возбуждения. М.—Л., 1953.
- Николау С., Камдал Н., Николау К.** Элементы общей инфракриобиологии. Бухарест, 1965, с. 261—323.
- Новикова К. Ф., Гневашев М. А., Токарева В. К. и др.** Влияние солнечной активности на возникновение заболеваний инфаркта миокарда и смертность от него.— Кардиол., 1968, т. 8, № 4.
- Одюбер Р.** Излучение при химических реакциях.— Усп. химии, 1938, т. 7, вып. 12, с. 59—65.
- Пирс Э.** Гистохимия теоретическая и прикладная. М.—Л., 1962, 962 с.
- Плеханов Г. Ф.** Электричество, магнетизм и живые системы.— В кн.: Живые системы в электромагнитных полях. Томск, 1978, с. 3—8.
- Плеханов Г. Ф.** Некоторые материалы по восприятию информации живыми системами.— В кн.: Бионика. М., 1965, с. 273—278.
- Поливода А. И., Тарусов Б. И., Журавлев А. И.** Люминесценция скелетных образований при действии облучения.— Мед. радиобiol., 1961, № 10, с. 90—95.
- Пресман А. С.** Электромагнитное поле и живая природа. М., 1968.
- Пресман А. С.** Электромагнитные поля и процессы регулирования в биологии.— В кн.: Вопросы бионики. М., 1967, с. 341—351.
- Пресман А. С.** Идеи Вернадского в современной биологии. М., 1976.
- Растргин Л. А.** Об аварийном управлении в биологической системе на примере превращения клетки в раковую.— В кн.: Вопросы бионики. М., 1967.
- Рошупкин Д. И.** Первичные стадии действия ультрафиолетового излучения на белки, липиды и биологические мембраны.— В кн.: Доклады симпозиума 6-го Международного конгресса. Т. 3. Пуццино-на-Оке, 1973, с. 91—110.
- Руководство по лабораторной диагностике вирусных и риккетсионных болезней/Под ред. Здорового Н. Ф. М., 1965.**
- Руководство по лабораторной диагностике гриппа, парагриппозных и аденовирусных заболеваний/Под ред. А. С. Горбуновой и М. И. Соколова. М., 1960. 167 с.**
- Самойлова К. А.** Действие ультрафиолетовой радиации на клетку. Л., 1967.
- Самойлова К. А.** Клеточные и молекулярные механизмы биологических эффектов УФ-излучения.— В кн.: Биологическое действие ультрафиолетового излучения. М., 1975.
- Самойлова К. А.** Особенности действия на клетку животных УФ-излучений разной длины волны.— В кн.: Фотобиология живой клетки. Л., 1979, с. 184—185.
- Свешников Б. Я.** Хроматографический и люминесцентный адсорбционный анализ цвета.— Природа, 1941, № 6, с. 14—24.
- Семенов А. П.** О некоторых проблемах химической кинетики и реакционной способности. М., 1958.
- Сент-Дьерди А.** Биоэнергетика. М., 1960.
- Сент-Дьерди А.** Биоэлектроника. М., 1971.
- Сердюк А. М.** Взаимодействие организма с электромагнитными полями как факторами окружающей среды. Киев, 1977.
- Современные методы исследования фотобиологических процессов/Под ред. Рубина А. Б. М., 1974.**
- Стрекоза В. Ю.** Митоз и магнитное поле.— В кн.: Проблемы космической биологии. Т. 18. М., 1973, с. 200—203.
- Стефанов С. Б.** Морфометрическая сетка случайного шага как средство для ускоренного измерения элементов морфогенеза.— Цитол., 1974а, т. 16, № 6, с. 785—787.

Стефанов С. Б. Морфокинетический синтез отношений пространственных и функциональных данных.— Биофиз., 1974б, т. 19, вып. 5, с. 884—888.

! Солнце, электричество, жизнь. М., 1968.

Тарусов Б. Н. Информационное значение сверхслабой биолюминоисценции.— В кн.: Тезисы докладов симпозиума «Сверхслабые свечения в биологии». М., 1969.

Тарусов Б. Н., Доскач Л. Е. Энергоинформационный аспект проблемы адаптации и устойчивости биологических систем.— В кн.: Тезисы докладов симпозиума «Сверхслабые свечения в биологии». М., 1969.

Тарусов Б. Н., Доскач Л. Е. Хемилюминесценция растений при внешних возбуждающих воздействиях.— В кн.: Тезисы докладов симпозиума «Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве». М., 1969.

Тарусов Б. Н., Веселовский В. А. Сверхслабые свечения растений и их прикладное значение. М., 1978.

Тарусов Б. Н., Журавлев А. И. Биохемилюминесценция липидов.— В кн.: Биолуминесценция. М., 1965, с. 125—133.

Тарусов Б. Н., Иванов И. Н., Петрусович Ю. М. Сверхслабое свечение биологических систем. М., 1967.

Тарусов Б. Н., Поливода А. И., Журавлев А. И. Обнаружение хемилюминесценции в печени облученных мышей.— Радиол., 1961а, № 1, с. 150—153.

Тарусов Б. Н., Поливода А. И., Журавлев А. И. Изучение сверхслабой спонтанной люминесценции животных клеток.— Биофиз., 1961б, т. 6, вып. 4, с. 490—492.

Терци М. Генетика и животная клетка. М., 1977.

Тимофеев-Ресовский И. В. О действии малых доз ионизирующих излучений на рост растений.— Труды Уральского отделения МОИП, 1960, № 2, с. 9—17.

Тимофеев-Ресовский И. В., Лучник И. В. О классификации возможных путей воздействия на общий эффект облучения.— Труды Ин-та биологии УФ АН СССР, 1957, вып. 13, с. 57—69.

Тихоненко Т. И. Биохимия вирусов. М., 1966. 295 с.

Туманинивили Г. Д. Перспективы исследования роли межклеточных взаимодействий в дифференцировке и росте.— В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 7—17.

Тумерман Л. А., Завильгельский Г. Б., Иванов В. И. О механизме явления термолюминесценции хлоропластов.— Биофиз., 1962, т. 7, вып. 1, с. 21—31.

Токин Б. П. О биологическом поле.— В кн.: Методические и теоретические проблемы биофизики. М., 1979.

Токин Б. П. Общая эмбриология. М., 1977. 509 с.

Троицкий И. А., Конев С. В., Катибников М. А. Исследование ультрафиолетовой хемилюминесценции биологических систем.— Биофиз., 1961, т. 6, с. 238.

Удингтон К. Морфогенез и генетика. М., 1954.

Филиппов М. В. К вопросу об измерении митогенетического излучения счетчиком фотоэлектронов.— Арх. биол. наук, 1937, т. 46, № 3.

Фомина А. Л., Орлов Ф. Н. Болезни птиц. М., 1971. 463 с.

Фотобиология живой клетки/Под ред. Троицка А. С. Л., 1979. 280 с.

Хемилюминесцентный метод в биологии и медицине (Аппаратура, методика, применение).— В кн.: Тезисы республиканской конференции «Применение радиоэлектроники в исследовании сверхслабых свечений биологических объектов». Киев, 1978.

Цитопатология вирусных инфекций/Под ред. Уайтлок О. С. Л., 1963.

Чесноков А. А., Чеснокова В. Д., Шакунова Е. А. Механизм восприятия излучения специализированными клеточными системами.— В кн.: Физико-математические и биологические проблемы действия электромагнитных полей и ионизации воздуха. Т. 1. М., 1975, с. 183—196.

Чечик И. С., Файнштейн С. М., Лифшиц Г. М. Электронные умножители. М., 1957.

- Чижевский А. Л. Земное эхо солнечных бурь. М., 1973.
- Чумакова Р. И. О связи люминесценции светящихся бактерий с метаболической активностью.— В кн.: Биолюминесценция. М., 1965, с. 142—146.
- Шмятт Ф. Молекулярная биология и основа жизненных процессов.— В кн.: Современные проблемы биофизики. Т. 1. М., 1961, с. 13—20.
- Шноль С. Э. Конформационные колебания макромолекул.— В кн.: Колебательные процессы в биологических и химических системах. М., 1967, с. 22—41.
- Шноль С. Э. Физико-химические факторы биологической эволюции. М., 1979.
- Энгельгард В. А. О некоторых атрибутах жизни: иерархия, интеграция, «узнавание».— Вопр. философ., 1976, № 7.
- Энгельгард В. А. Специфичность биологического обмена веществ.— В кн.: О сущности жизни. М., 1964.
- Энгельгард В. А. Интегрализм — путь от простого к сложному в познании явлений жизни.— Вопр. философ., 1970, № 12.
- Языков А. А., Вязов О. Е. Дистантные и контактные взаимодействия агрегирующих и клеточных комплексов в период восстановления целого организма губки из диссоциированных клеток.— В кн.: Межклеточные взаимодействия в дифференцировке и росте. М., 1970, с. 194—202.
- Ямбастиев М. И. Сверхсвето биологично излъчване като основа за спектроскопски подход към някои медицински проблеми.— Мед. арх., 1976, т. 14, № 9, с. 49—54.
- Ямбастиев М. И., Попов С. В., Георгиева Д. Г. Корреляция между ультрафиолетовите спектри на някои органични съединения и тяхното биологично съобщения.— В кн.: Сборник от доклади и научни съобщения, изнесени пред научната сесия, посветена на 60 годишнината великата октомврийска социалистическа революция на тема: октомври и съвременната наука. Т. 2. Шумен, 1977, с. 85—90.
- Яковский Б. М. Земной магнетизм. М., 1978. 591 с.
- Audubert R. Die Emission von Strahlung bei chemischen Reaktionen.— *Eugw. Chem.*, 1938, N 51.
- Audubert R. Emission of ultraviolet rays by chemical reactions.— *Tryns. Farad. Soc.*, 1939, v. 35, N 213, p. 197.
- Barron. Über mitogenetische strahlung dei Protisten.— *Arch. für. Entw-mech.* 1926, v. 108, p. 617—633.
- Carlson L. D., Scheyer W. Y., Gackson B. H. The Combined Effect of Ionising Radiation and Low Temperature on the Metabolism Longevity and Soft Tissue of the White Rat.— *Rad. Res.*, 1957, v. 7, N 1, p. 190—197.
- Colli L., Faccini V. Light Emission by Germinating Plants.— *Nuovo ciemento*, 1954, v. 12, p. 150—153.
- Cork Y. M. Gamma-Radiation and Longevity of the Flour Beetle.— *Rad. Res.*, 1957, N 6, p. 551—557.
- Dales S., Franklin R. A comparison of the changes in fane structure of Z-cells during single cycles of viral multiplication.— *Biol.*, 1962, v. 14, N 2, p. 281.
- Dulbecco R. Transformation of cells in vitro by viruses.— *Sci.*, 1963, v. 142, p. 9.
- Dubois R. Sur le mecanisme de production de la lumiere chez «Orya barbarisa» d'Algerie.— *Com. Rend. Acad. Sci.*, 1893, v. 117, p. 343—345.
- Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium, Marburg, September 5, 1977. München — Wien — Baltimore, 1979.
- Fischer H. Photons as Transmitter for Intra-and Intercellular Biological and Biochemical Communication — the Construction of a Hypothesis.— In: Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium, Marburg, September 5, 1977, München — Wien — Baltimore, 1979.
- Frankenburger W. Neuere Ansichten über das Wesen photochemischer Prozesse und ihre Bedeutung zu biologischen Vorgängen.— *Strahlentherapie*, 1933, N 47, p. 233.

Fraser A., Fray A. Electromagnetic emission at micron wavelengths from Electromagnetic emission at micron wavelengths from active nerves.— *Biophys. J.*, 1968, v. 7, p. 731—744.

Green M., Pina M. Stimulation of the DNA synthesizing enzymes of cultures human cells by vaccinia virus infection.— *Virology*, 1962, v. 17, N 4, p. 603.

Harbers E., Muller W. On the inhibition of RNA synthesis by actinomycine.— *BBRJ*, 1962, v. 7, N 2, p. 107.

Harvey E. N. Living light. Princeton Univ. Press. New Jersey, 1940.

Holtzer H., Croop G., Dienstman S., Ishihawa H., Somligo A. Effects of cytochalasin B and colcemid on Myogenic Culture.— *Proc. Nat. Acad. Sci, USA*, 1975, v. 72, N 2, p. 513—517.

Ivanova O. Y., Margolis L. B., Vasiliev Y. M., Gelfand J. M. Effect of colcemid on spreading of fibroblasts in culture.— *Experimental Cell Res.*, 1976, v. 101, N 1, p. 207—219.

Kaznachev V. P., Shurin S. P., Mikhailova L. P., Ignatovich N. V. Distant intercellular interaction in a system of two tissue cultures.— *Psychoenergetic systems*, 1976, v. 1, p. 141—142.

Kaznachev V. P., Shurin S. P., Mikhailova L. P., Ignatovich N. V. Distant intercellular interaction in a system of two tissue cultures.— *Chemistry*, 1973, N 2, p. 37—39.

König H. Z. Bioinformation. Electrophysical Aspects.— In: *Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium. Marburg, September 5, 1977. München — Wien — Baltimore*, 1979.

Lalley P. A., Roland M. N. Effect of colcemid on multinuclearity, DNA synthesis and cell cycle of strain L.— *J. of cell Biology*, 1974, v. 64, N 2, p. 182.

Lepeskin W. W. The influence of narcotic mechanical agents and light upon the permeability of protoplasm.— *Amer. J. Bot.*, 1932, p. 568—610.

Popp F. A. Photon Storage in Biological Systems.— In: *Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium. Marburg, September 5, 1977. München — Wien — Baltimore*, 1979.

Popp E. A., Rutn B. Untersuchungen zur ultraschwachen Luminiszenz aus biologischen Systemen unter Berücksichtigung der Bedeutung für die Arzneimittelforschung.— *Arzneim.—Forsch. Drug. Res.*, 1977, v. 27 (1), N 5.

Presman A. S. Electromagnetic fields and life. N. Y. 1977.

Rajewsky B. Zur Frage der physikalischen Nachweiser der Gurwich-Strahlung in zehn Jahren Forschung im medizinisch-physikalischen Grenzgebiet. Leipzig, 1931.

Rottmeyer M. Modelle zur Interpretation der ultraschwachen Photonenemission aus biologischen Systemen. Diplomarbeit, Marburg, 1978.

Ruth B. Experimental Investigations on Ultraweak Photon Emission.— In: *Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium, Marburg, September 5, 1977, München — Wien — Baltimore*, 1979.

Streller B., Arnold W. Light production by green plants.— *J. Gen. physiol.*, 1951, v. 34, p. 289.

Stubblefield E., Klevetz R. Synchronization of Chinese hamster cells by reversal of cold mid inhibition.— *Expl. cell. Research.*, 1965, v. 40, N 3, p. 660—664.

Sung S. S. A possible biophotochemical mechanism for cell communication.— In: *Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium, Marburg, September 5, 1977, München — Wien — Baltimore*, 1979.

Warne U. Information Transmission by means of Electrical Biofields.— In: *Electromagnetic Bio-Information. Proceedings of the Symposium, Marburg, September 5, 1977. München — Wien — Baltimore*, 1979.

Weiss P. From Cell to Molecule.— In: *The molecular control of cellular activity*. McGraw Hill, 1962.

Weiss P. The cell as unit.— *Theoret. Biol.*, 1963, N 5, p. 389.

ПРИЛОЖЕНИЕ

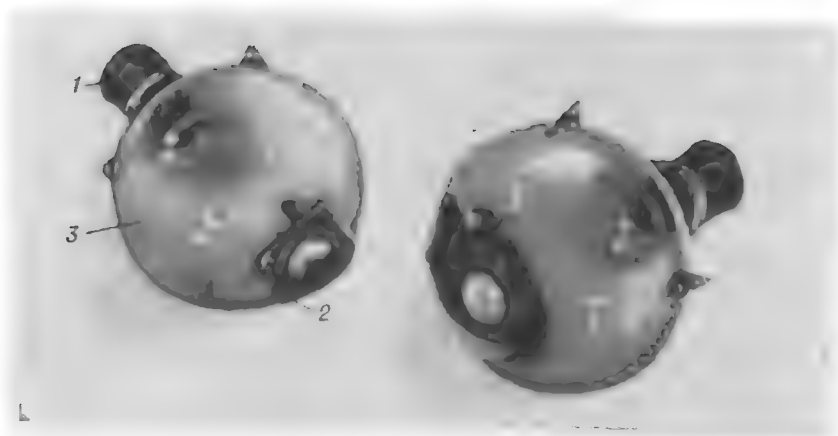


Фото 1. Смонтированные камеры с выросшей культурой на стекле-подложке.

1 — пробка; 2 — припаянное дно-подложка с выросшими на нем клетками; 3 — баллон камеры.

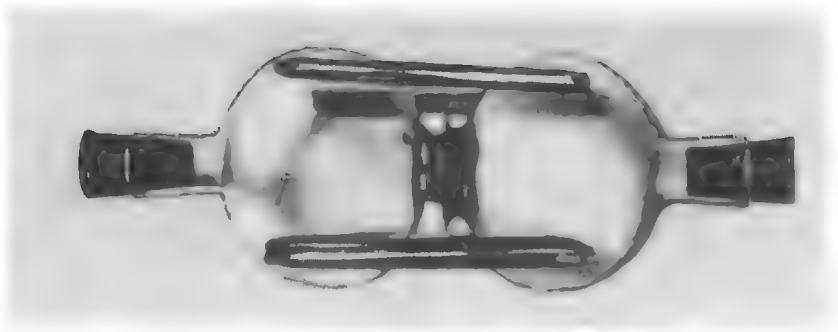


Фото 2. Смонтированные камеры, соединенные попарно.

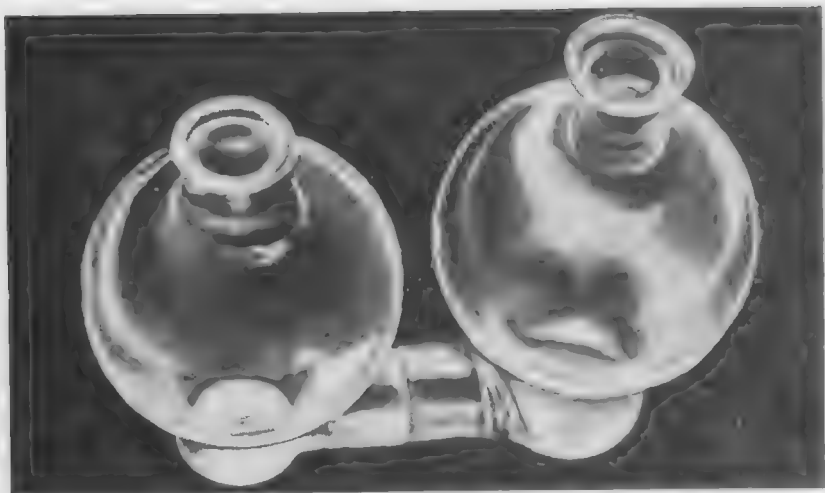


Фото 3. Смонтированные камеры с Г-образно отведенным патрубком, соединенные попарно.

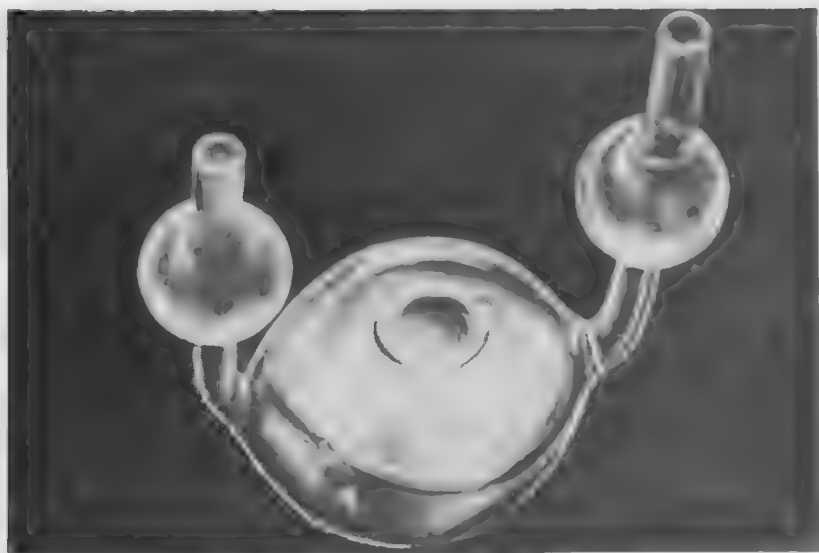


Фото 4. Смонтированные камеры в виде двух чашек Карреля, соединенные попарно.

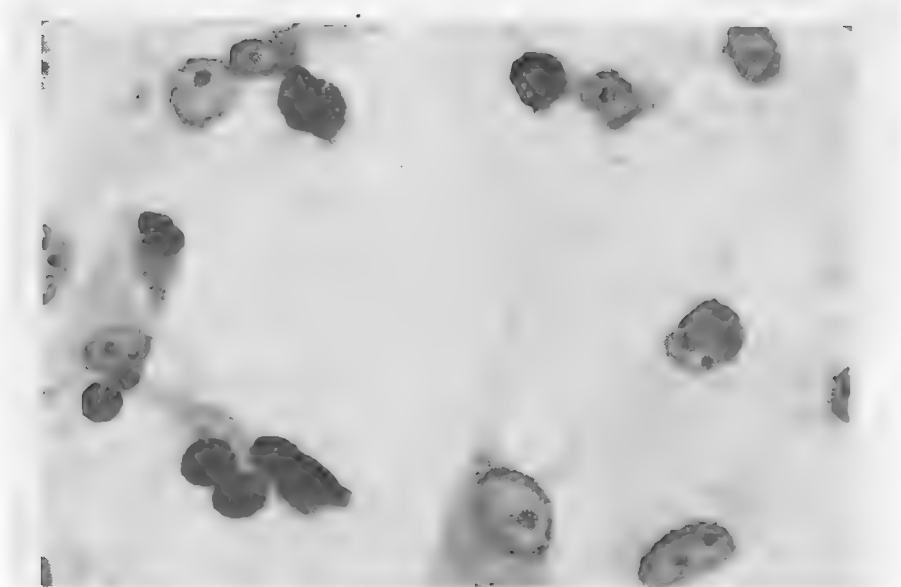


Фото 5. Зараженная камера. Вирус Коксаки А 13. Дискомплексация моплоиды, проявление базофильных и пикнотических клеток. 400. 36 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

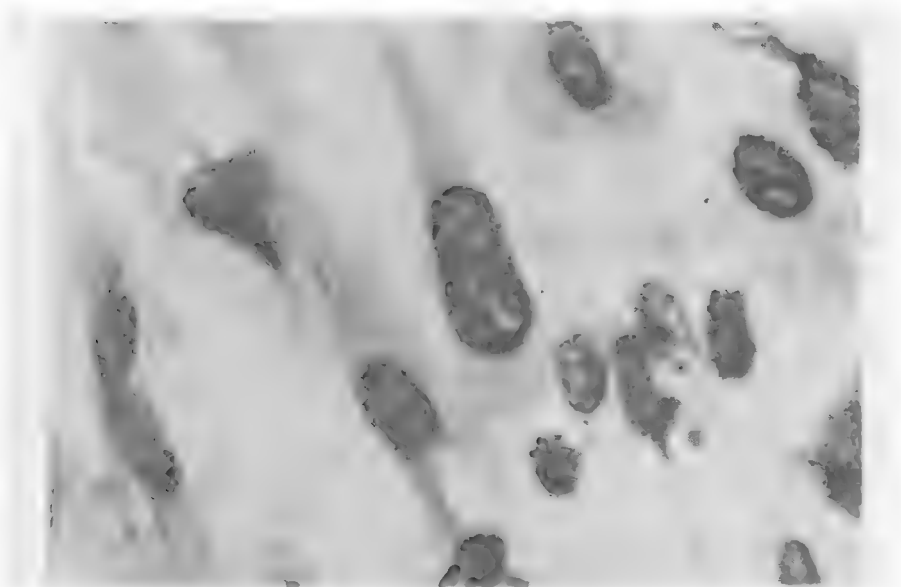


Фото 6. «Зеркальная» камера. Появление округлившись базофильных и отдельных пикнотизированных клеток. X400. 36 ч после контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

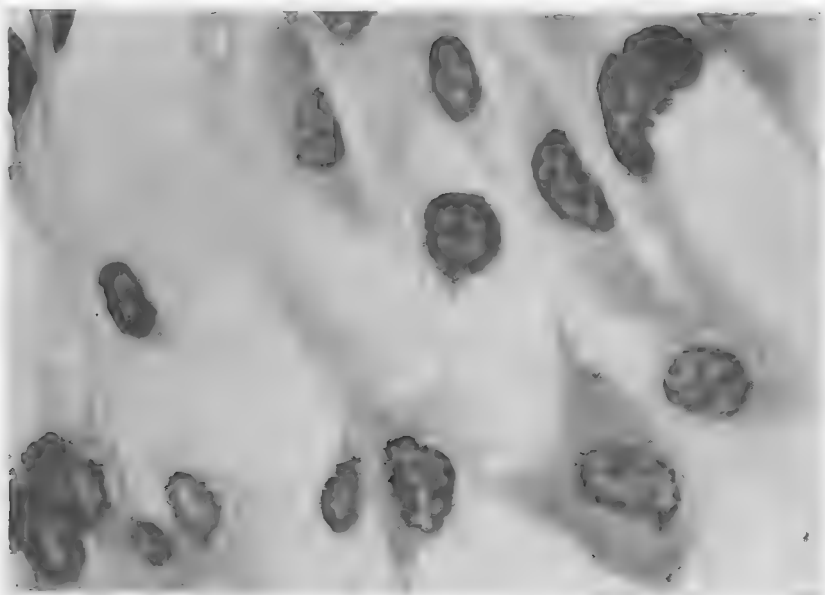


Фото 7. Зараженная камера. Вирус Коксаки А-13. Дискомплексация монослоя, появление базофильных и пикнотических клеток. $\times 400$. 36 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

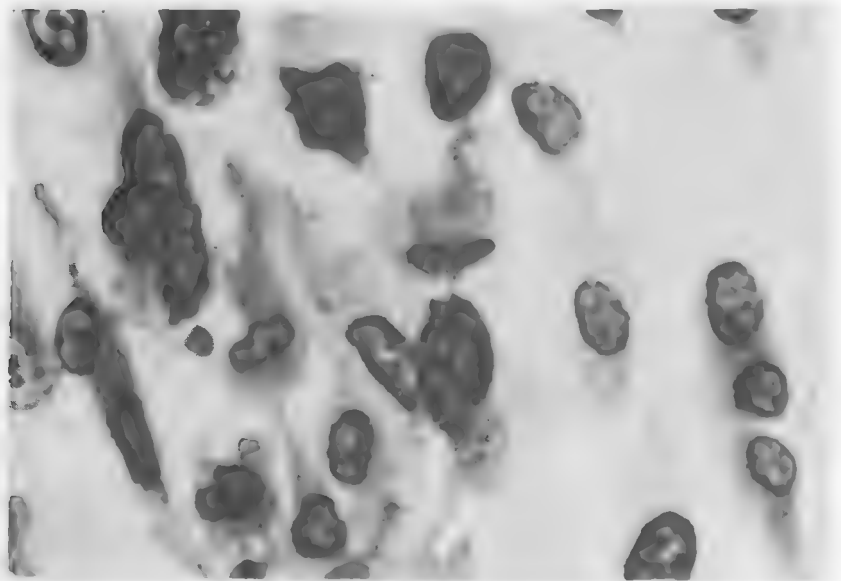


Фото 8. «Зеркальная» камера. Появление округлившихся базофильных и отдельных пикнотизированных клеток. $\times 400$. 36 ч после контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

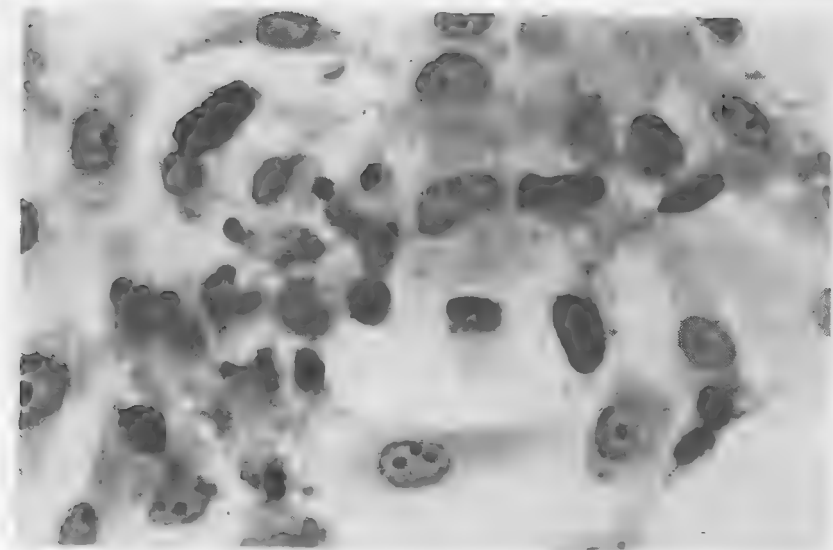


Фото 9. Зараженная камера. Вирус Коксаки А-13. Нарастание числа пикнотических элементов, кариорексис, видны «голые» ядра. $\times 400$. 48 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

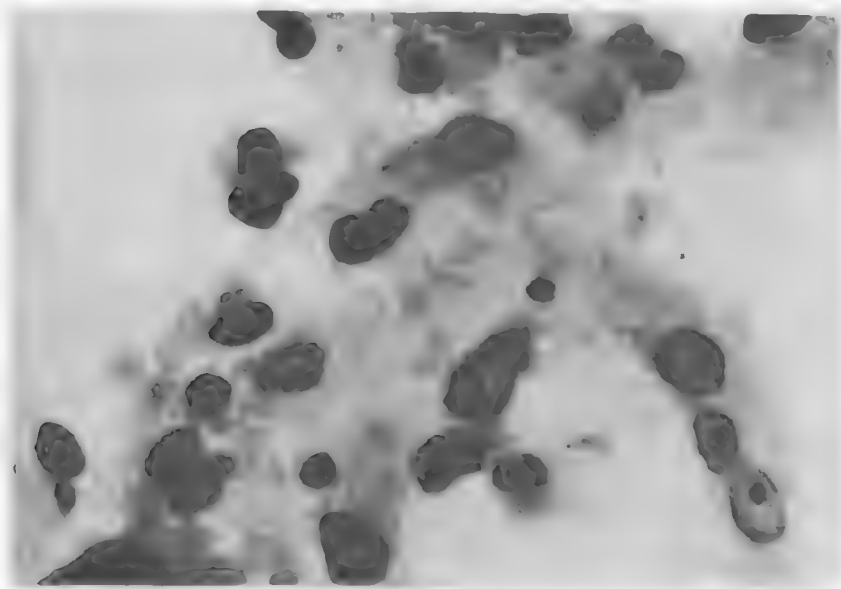


Фото 10. «Зеркальная» камера. Нарастание числа пикнотических элементов, «голые» ядра. $\times 400$. 48 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

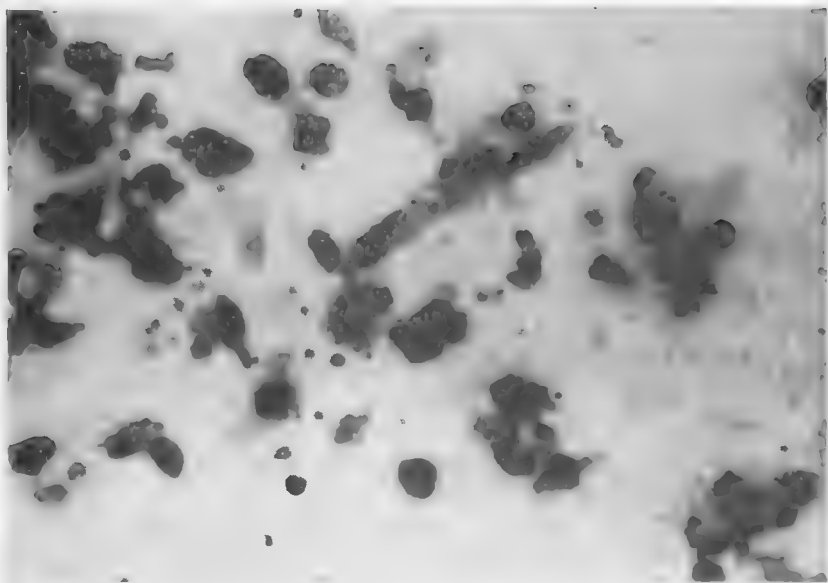


Фото 11. Зараженная камера. Вирус Коксаки А-13. Преобладают мелкие гиперхромные пикнотические ядра и их «обломки». Сохранившихся клеток почти нет. $\times 100$. 72 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

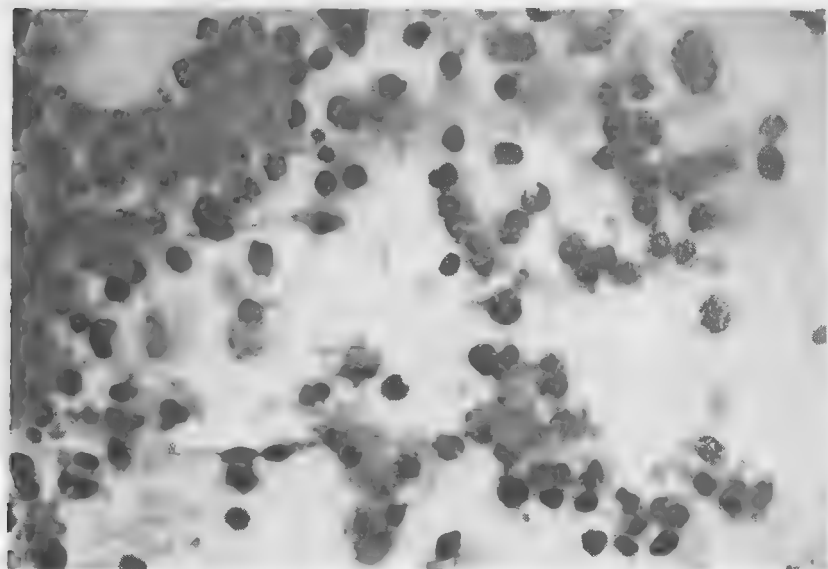


Фото 12. «Зеркальная» камера. На фоне отдельных сохранившихся фибробластов пикнотические ядра, их «обломки». $\times 100$. 72 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

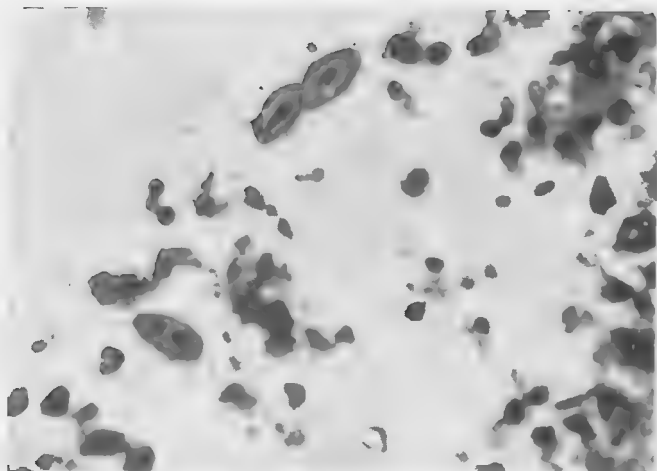


Фото 13. Зараженная камера. Вирус Коксаки А-13. Шкел-поз и гибель клеток. Сохранились лишь отдельные фибро-бласты. $\times 400$. 72 ч после заражения. Стеклянная под-ложка. Культура фибробластов куриного эмбриона.

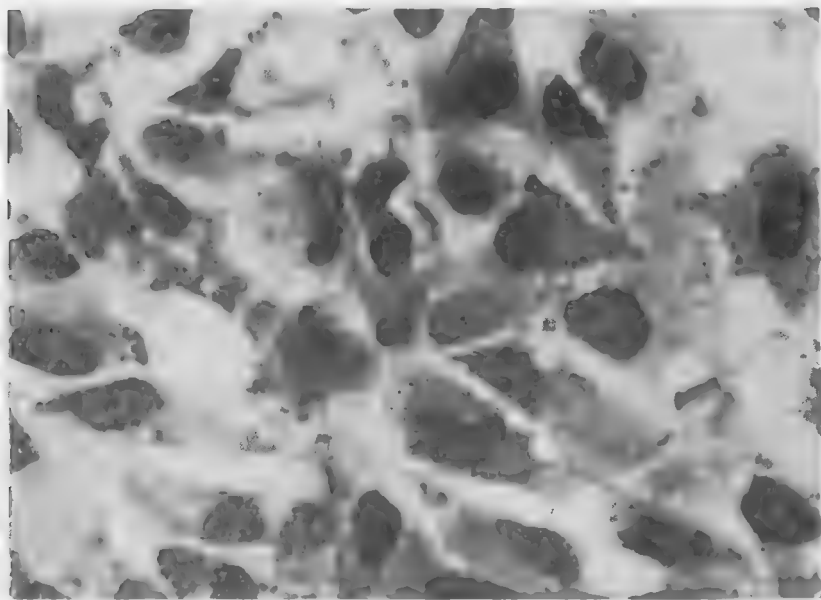


Фото 14. «Зеркальная» камера; отсутствие «зеркального» ЦПЭ. Нормальная культура ткани. $\times 400$. Контакт 72 ч. Стеклянная подложка. Культура фибробласта куриного эмбриона.

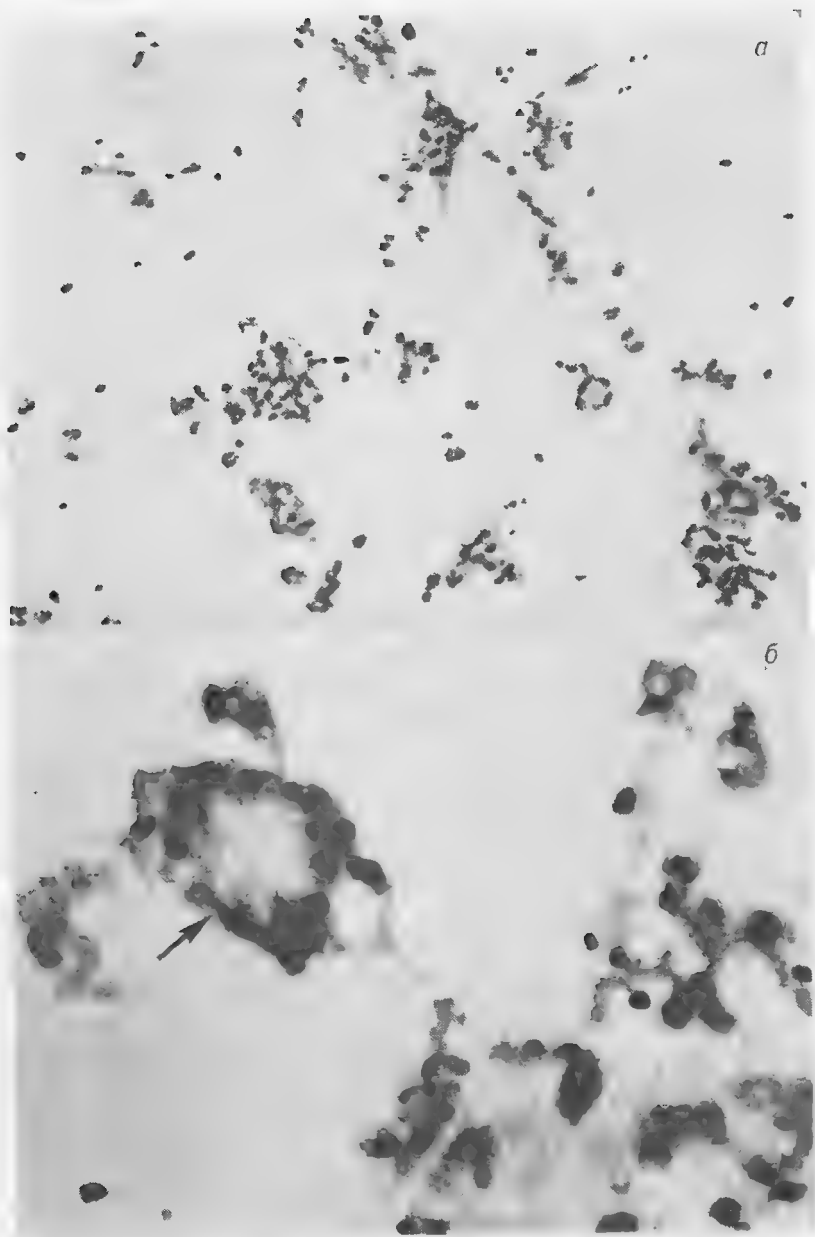


Фото 15. Зараженная камера. Вирус *FPV*. 48 ч после заражения. Кварцевая подложка.

Культура фибробластов куриного эмбриона: *а* — тотальная гибель монослоя. Пикноз клеток, вакуолярная дистрофия. $\times 100$; *б* — тот же препарат. На фоне пикнотических вакуолизированных клеток отдельные синциты (указаны стрелкой) с расположенными в виде частотыколы ядрами. $\times 250$.

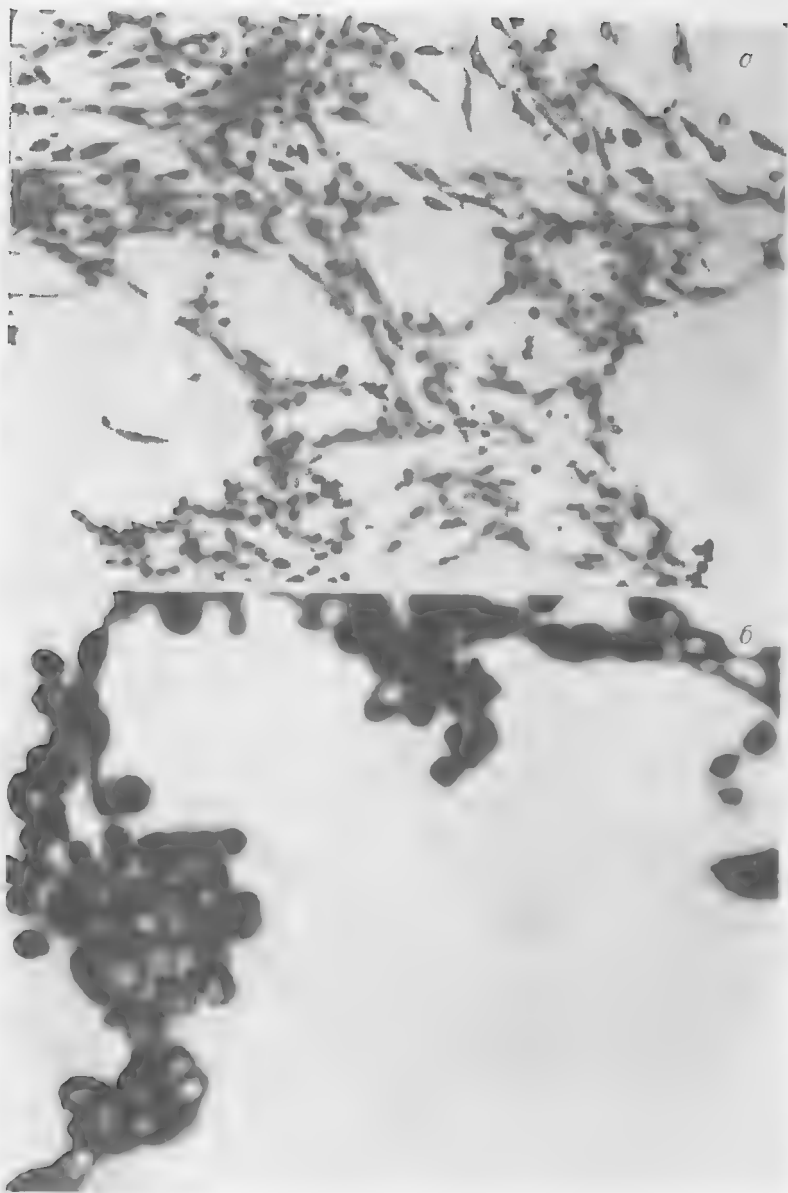


Фото 16. «Зеркальная» камера. 48 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона: *а* — массовое округление клеток и сближение их в комплексы. $\times 100$; *б* — тот же препарат. Округлившиеся пропотеческие вакуолизированные клетки, стоящие в гроздевидные комплексы. Отсутствие симпластов. $\times 250$.

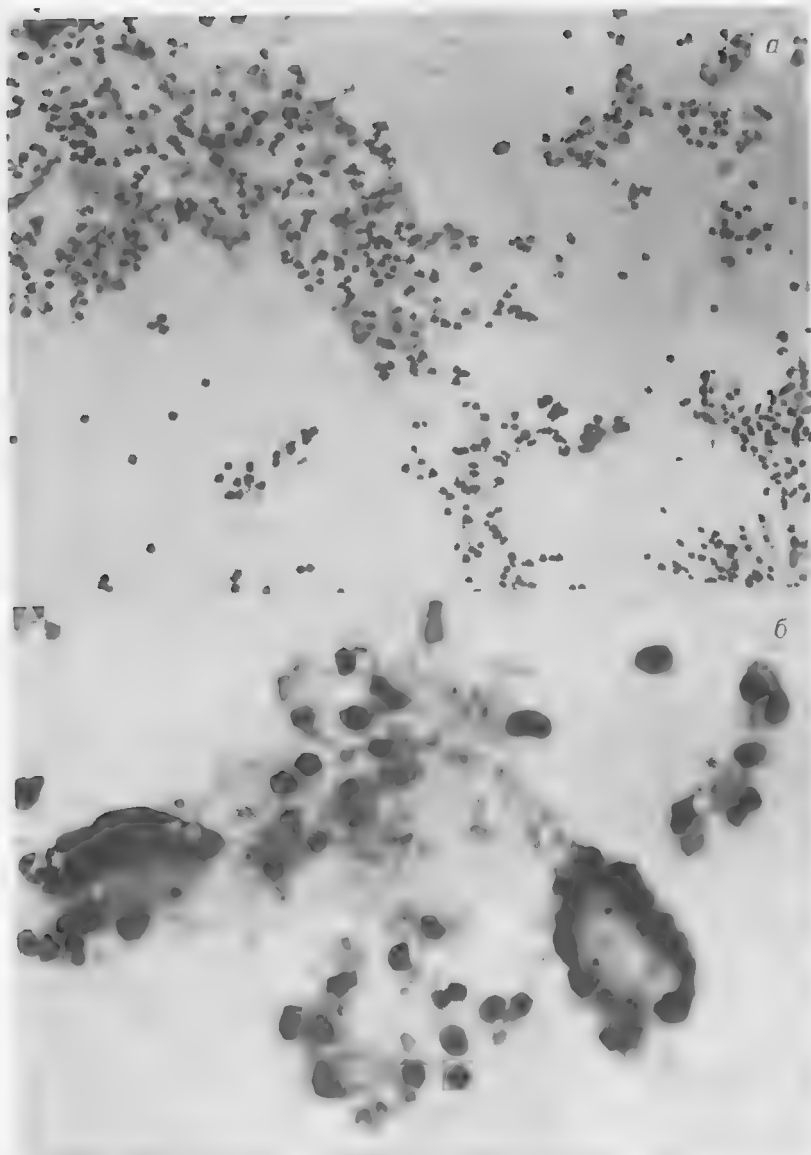


Фото 17. Зараженная камера. Вирус *FPRV*. 48 ч после заражения. Кварцевая подложка.

Культура фибробластов куриного эмбриона: *a* — тотальная гибель монослоя. Пиноз клеток и синцитиоз. Вакуольная дистрофия. $\times 100$; *b* — тот же препарат. Пинозные вакуолизирующие клетки. Пиноз синцитиаста. $\times 250$.

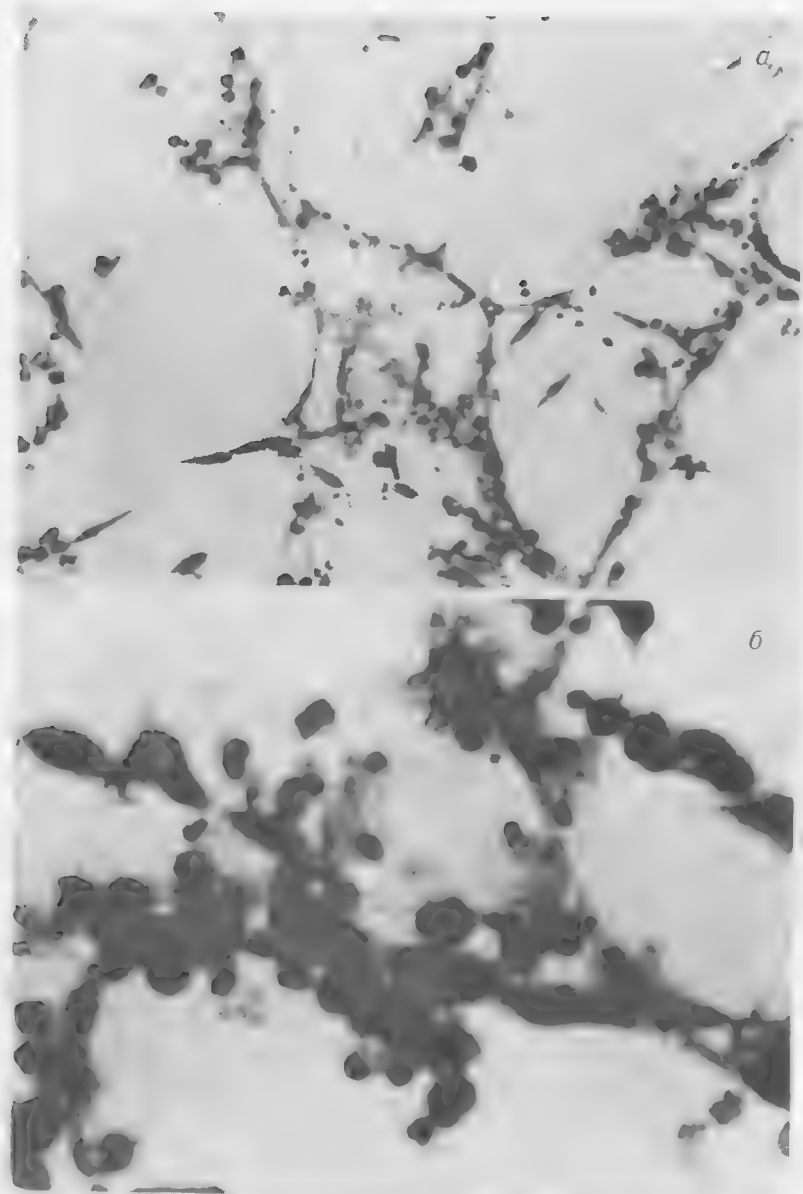


Фото 18. «Зеркальная» камера. 48 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура фибробластов куриного эмбриона: а — дисконфлукция монослоя. Стигивание округлившихся пикнотизированных клеток в гроздевидные конгломераты. $\times 100$; б — тот же препарат. Пиноз и вакуолизация клеток, стигнутых в комплексы. Симпластообразование отсутствует. $\times 250$.

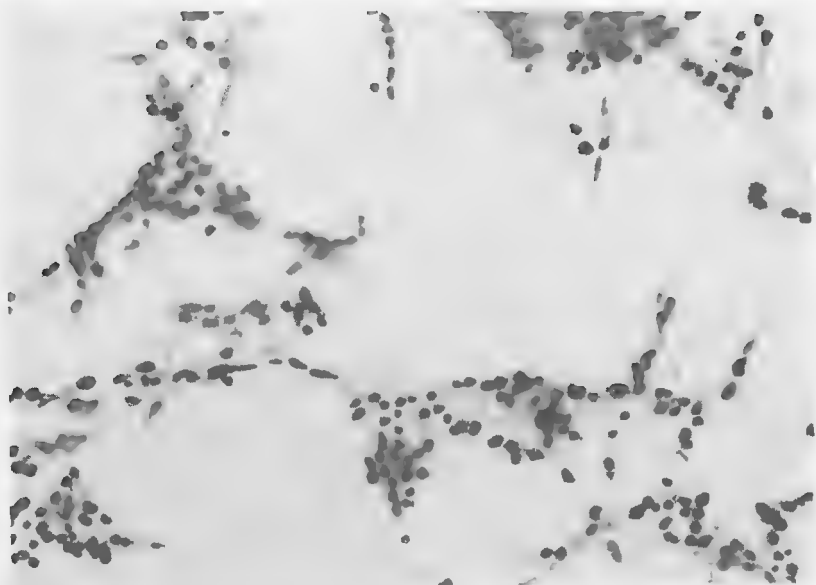


Фото 19. Зараженная камера. Вирус FPL. Тотальная гибель монослоев. Пикноз, глыбчатый распад клеток и образовавшиеся синцитиосты. 100. 48 ч после заражения. Стеклоплатформа. Культура фибробластов куриного эмбриона.

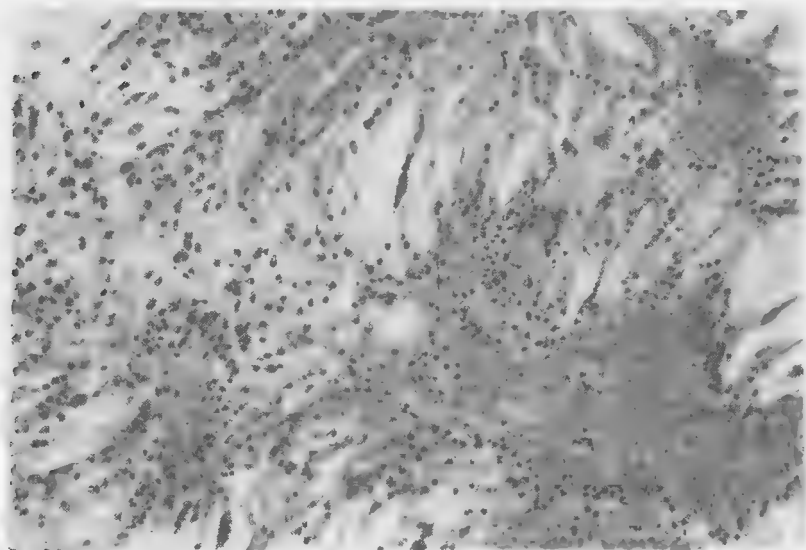


Фото 20. «Зеркальная» камера. Отсутствие эффекта «зеркального» ЦИД. Нормальная культура фибробластов куриного эмбриона. 100. Контакт 48 ч. Стеклоплатформа.

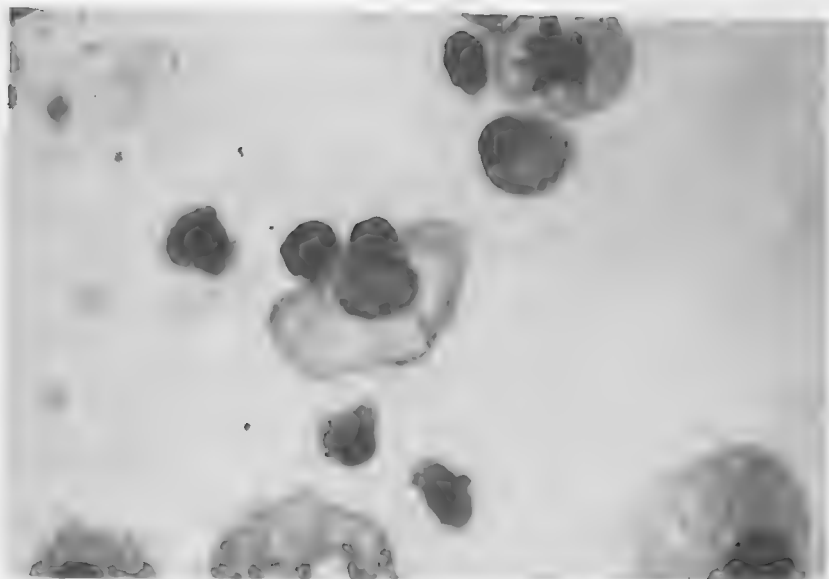


Фото 21. Зараженная камера. Аденовирус. Набухшие базофильные клетки с гиперхромным ядром. В одной из клеток цитоплазматические включения. $\times 400$. 96 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

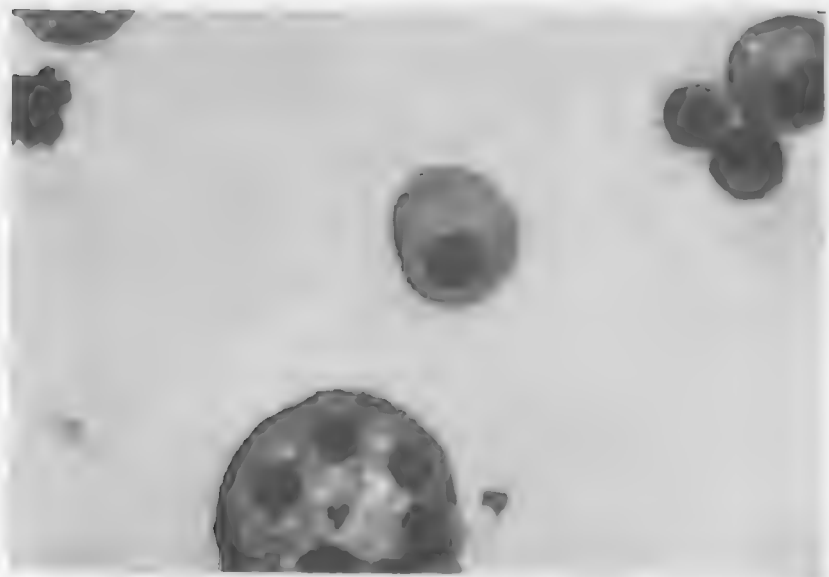


Фото 22. «Зеркальная» камера. Округлившиеся клетки с гиперхромными ядрами. $\times 400$. 96 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

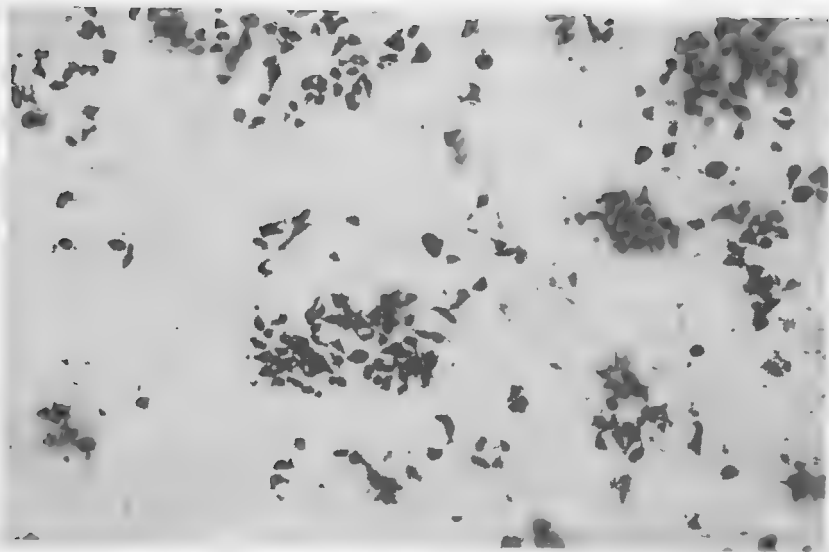


Фото 23. Зараженная камера. Аденовирус. Гибель монослоя. Стягивание округлившихся клеток в типичные образования, напоминающие тутовую ягоду. $\times 100$. 96 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

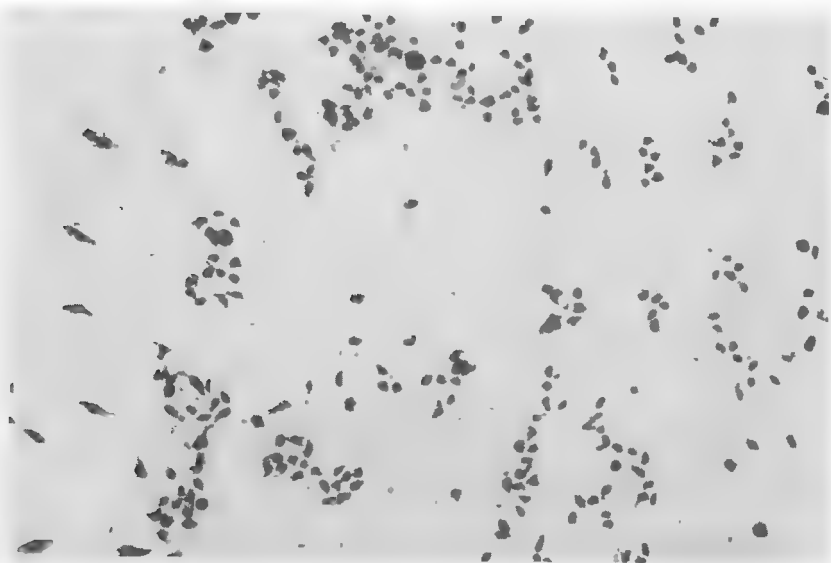


Фото 24. «Зеркальная» камера. Гибель монослоя. Препарат представляет собой массу не связанных друг с другом клеток с пикнотическим ядром. $\times 100$. 96 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

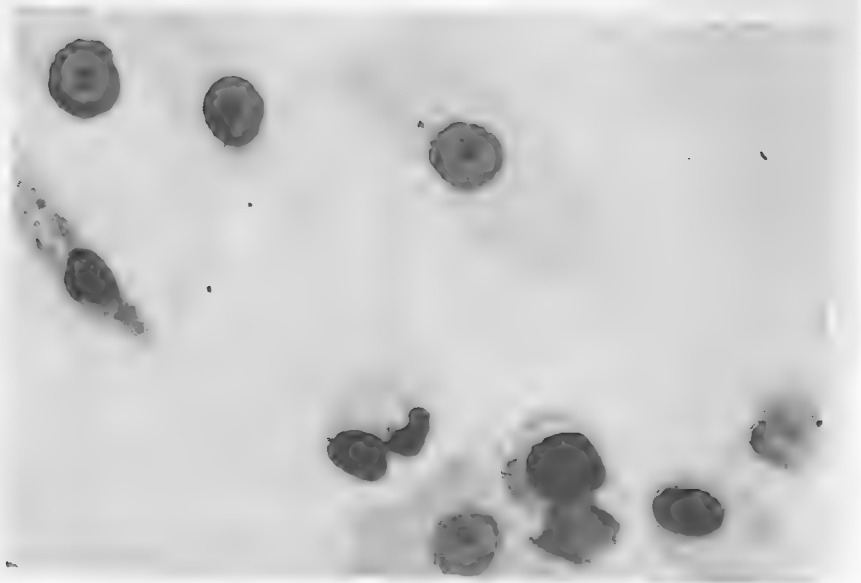


Фото 25. Зараженная камера. Аденовирус. Гибель монослоя. Резкое набухание округлившихся базофильных клеток с гиперхромным ядром. $\times 100$. 120 ч после заражения. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

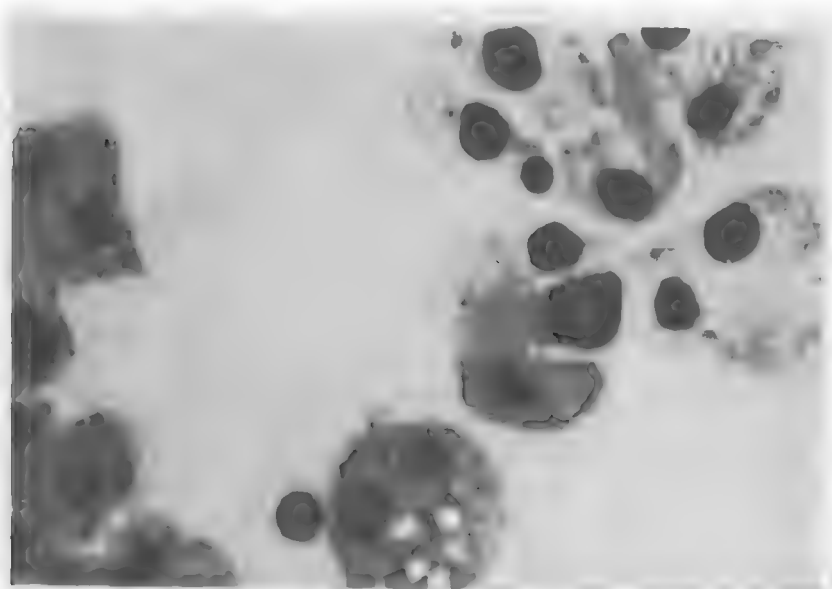


Фото 26. «Зеркальная» камера. Гибель монослоя. Некроз клеток. $\times 100$. 120 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура почки обезьяны.

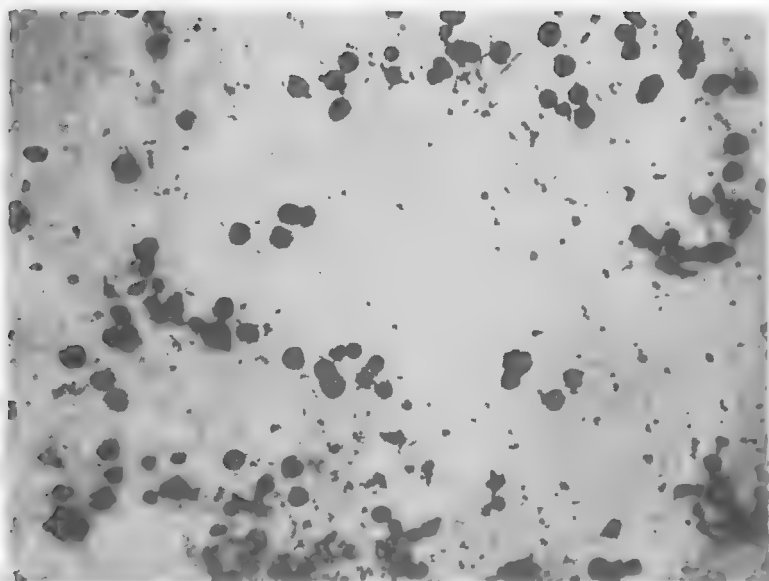


Фото 27. Зараженная камера. Аденовирус. Гибель монослоя. Резкое набухание округившихся базофильных клеток с гиперхромным ядром. $\times 100$. 96 ч после заражения. Стеклозная подложка. Культура почки обезьяны.

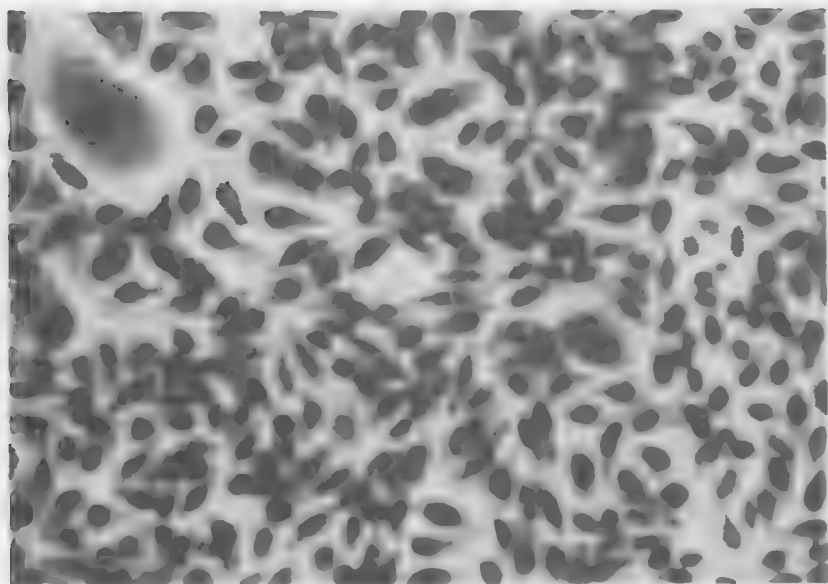


Фото 28. «Зеркальная» камера. Отсутствие эффекта «зеркального» ЦНД. Нормальная культура ткани. $\times 100$. 96 ч контакта. Стеклозная подложка. Культура почки обезьяны.

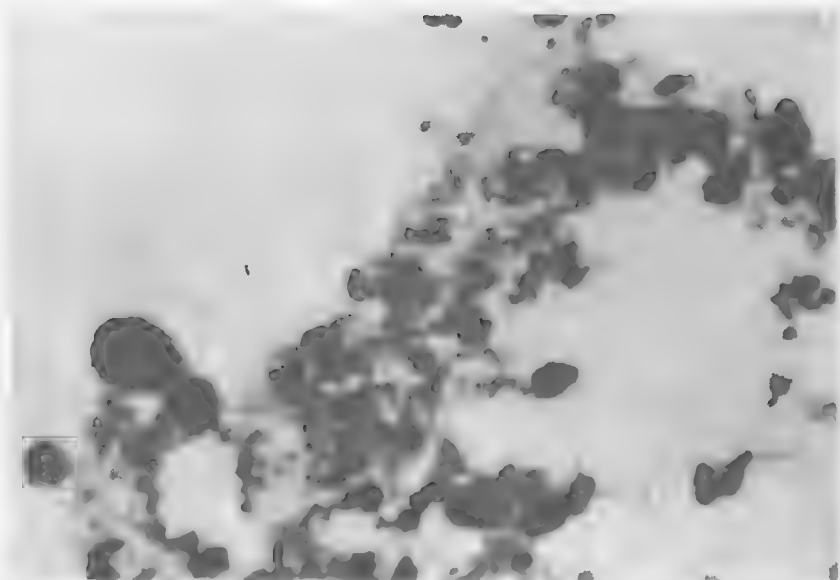


Фото 29. Камера с сулемой. Пикноз, зернистая и вакуолярная дистрофия клеток. 400. 48 ч после внесения сулемы. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

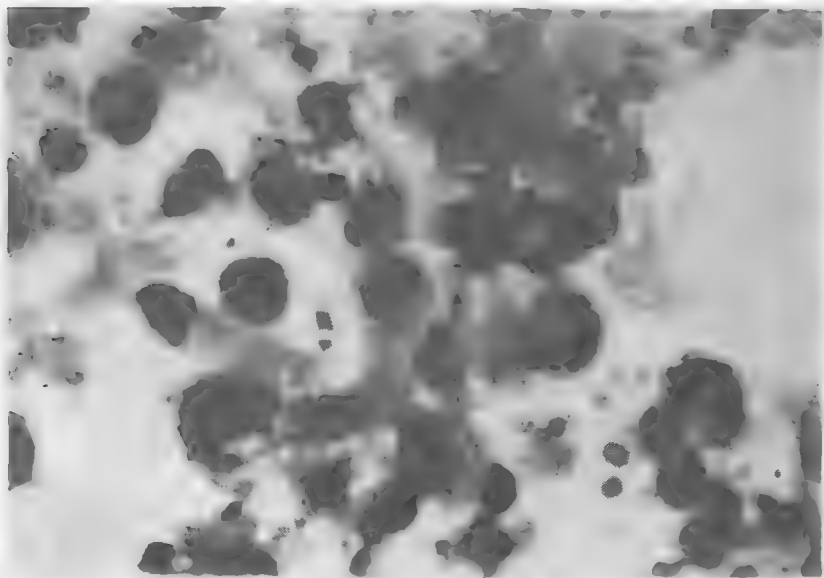


Фото 30. «Зеркальная» камера. Пикноз ядер, вакуолярная дистрофия клеток. $\times 400$. 48 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

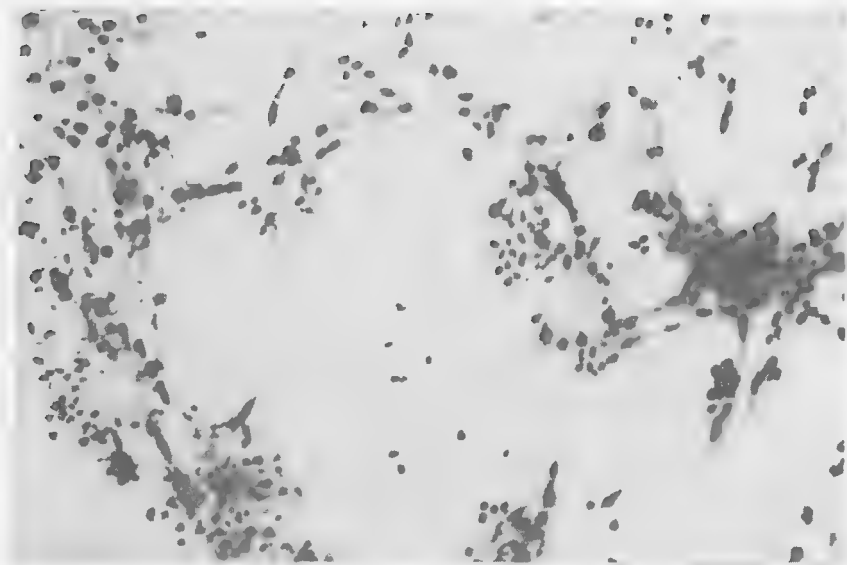


Фото 31. Камера с сулемой. Гибель монослоя с отслаиванием клеток. Пикноз и зернистая дистрофия клеток. $\times 100$. 72 ч после внесения сулемы. Кварцевая подложка. Культура ткани человеческого эмбриона.

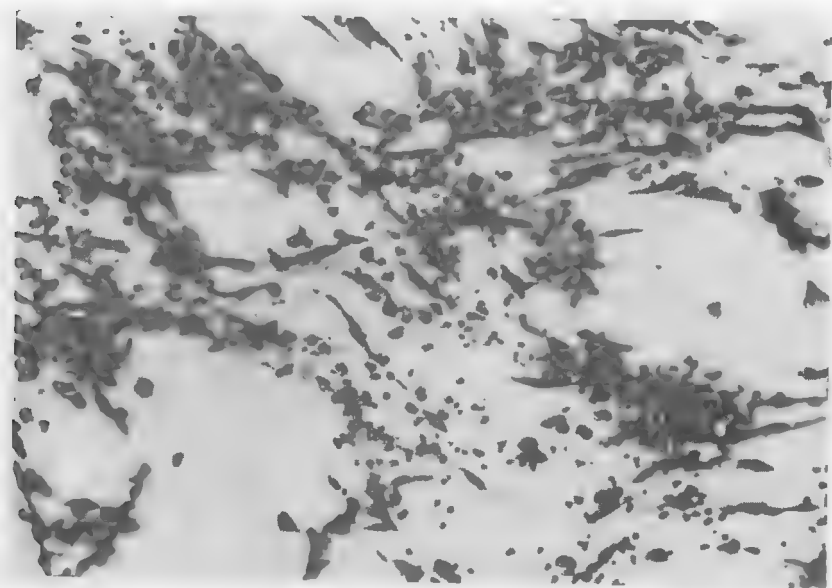


Фото 32. «Зеркальная» камера. Гибель монослоя. Стягивание пикнотизированных клеток в конгломераты. $\times 100$. 72 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура ткани человеческого эмбриона.

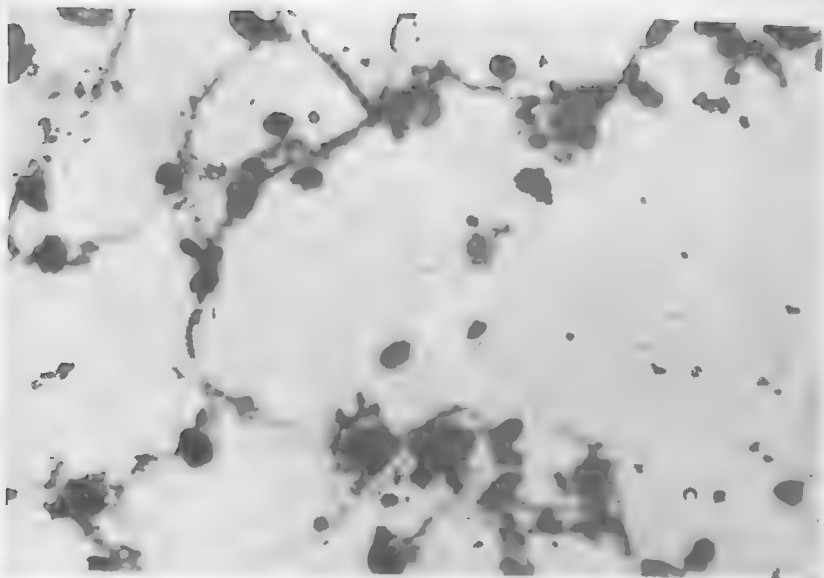


Фото 33. Камера с сулемой. Гибель монослоя. Зернистая и вакуолярная дистрофия клеток. Карпионикоз (бобовидные ядра). $\times 250$. 72 ч после внесения сулемы. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

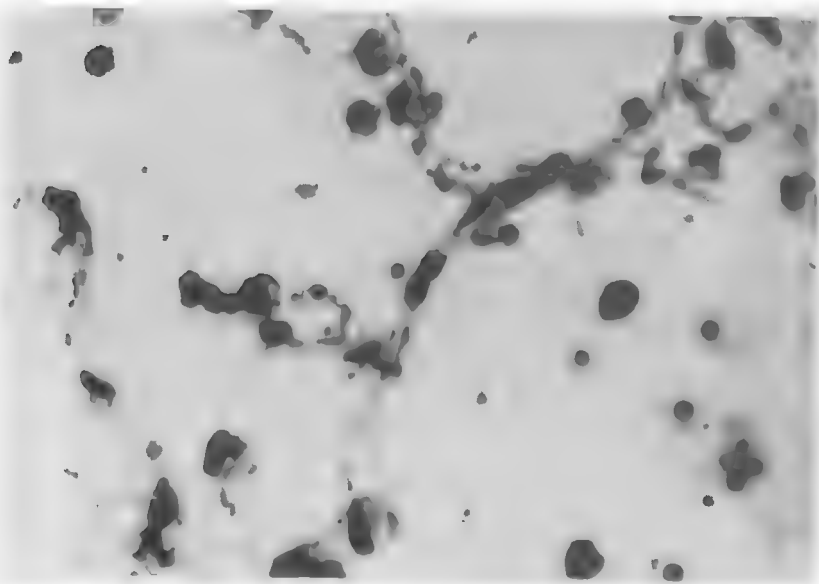


Фото 34. «Зеркальная» камера. Гибель монослоя. Зернистая и вакуолярная дистрофия клеток. Карпионикоз с характерными бобовидными ядрами. $\times 250$. 72 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

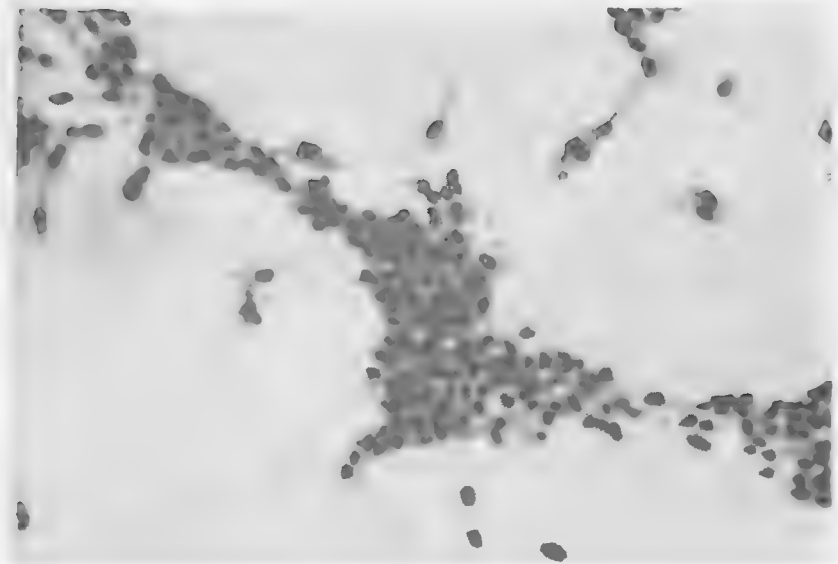


Фото 35. Камера с сулемой. Гибель монослоя и стягивание пикнотизированных клеток в конгломераты. Пикноз ядер, вакуолярная дистрофия клеток. 48 ч контакта. $\times 100$. Культура ткани человеческих фибробластов. Стекла́нная подложка.

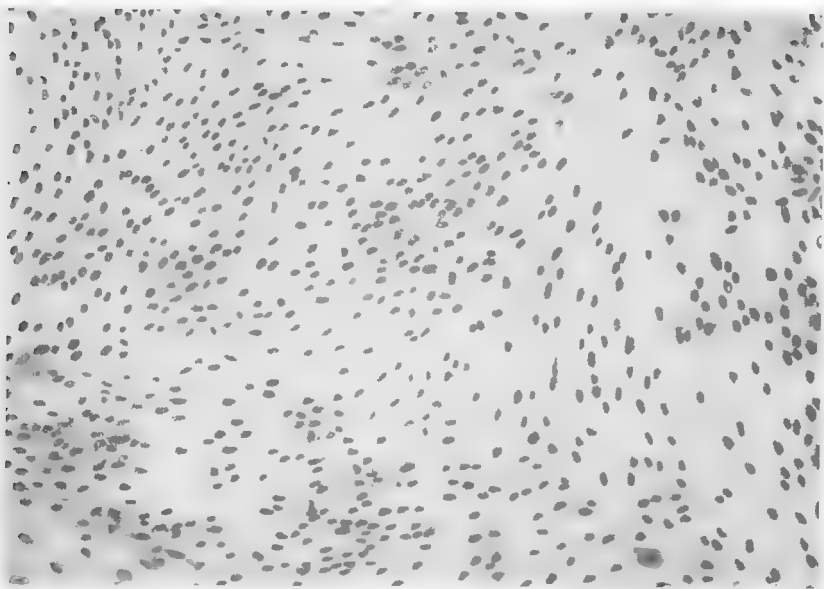


Фото 36. «Зеркальная» камера. Нормальные клетки культуры человеческих фибробластов. $\times 100$. 48 ч контакта. Стекла́нная подложка.

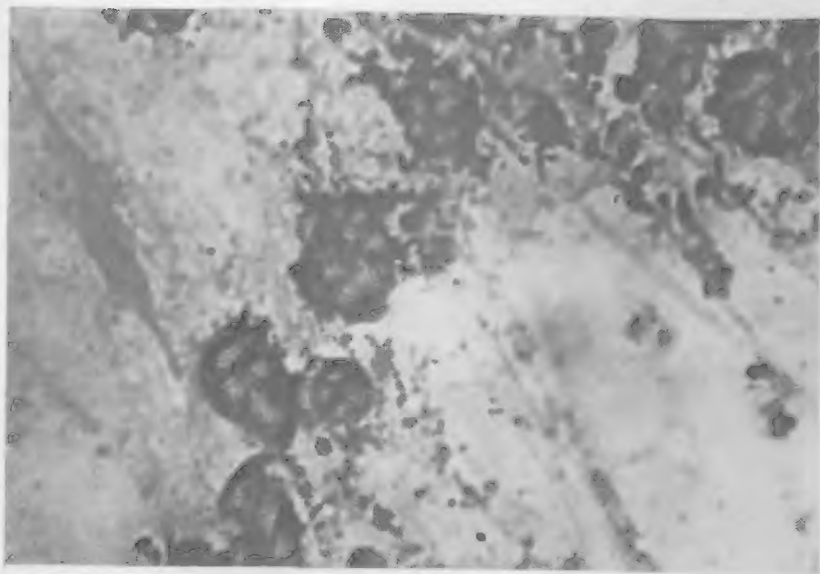


Фото 37. Камера, облученная УФ. Клетки в виде зернистых шаров. Зернистый распад клеток. $\times 400$. 48 ч после облучения. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.



Фото 38. «Зеркальная» камера. Наряду с сохранившимися фибробластами, ядра которых потеряли способность воспринимать краситель, наблюдается зернистый распад клеток. $\times 400$. 48 ч контакта. Кварцевая подложка. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

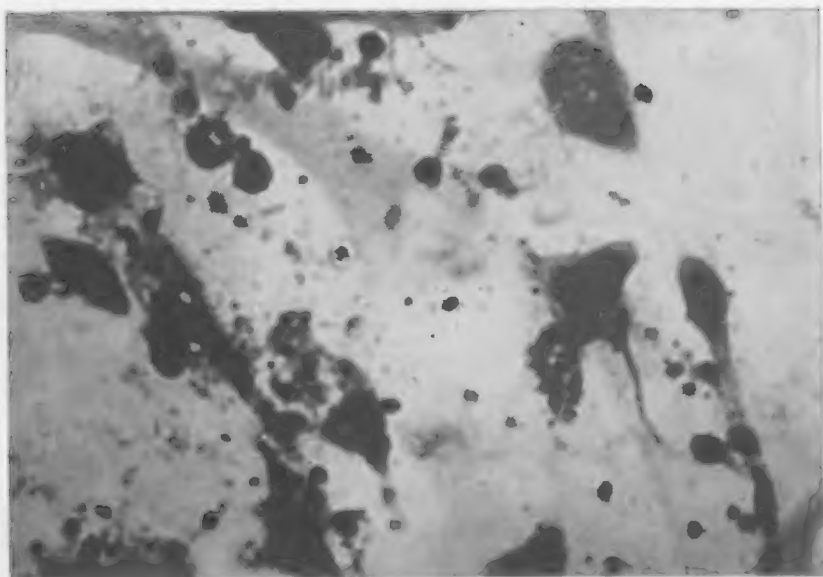


Фото 39. Камера, облученная УФ. Тотальная гибель монослоя, округлые плазматические образования, подвергающиеся глыбчатому распаду на бесструктурные оксифильные массы. Зернистый распад ядер. $\times 400$. 72 ч контакта. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

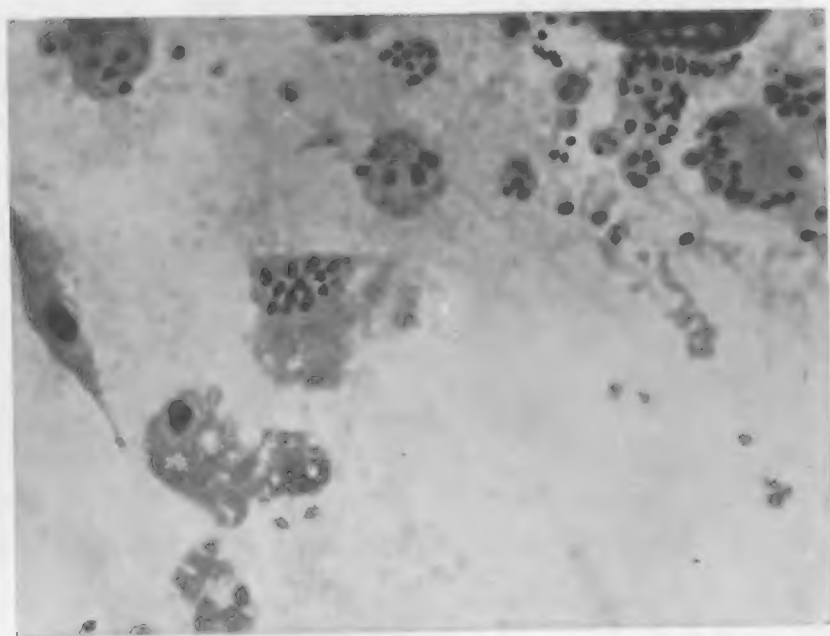


Фото 40. «Зеркальная» камера. Весь монослой представляет собой поле, усеянное глыбчатыми оксифильными массами. $\times 400$. 72 ч контакта. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

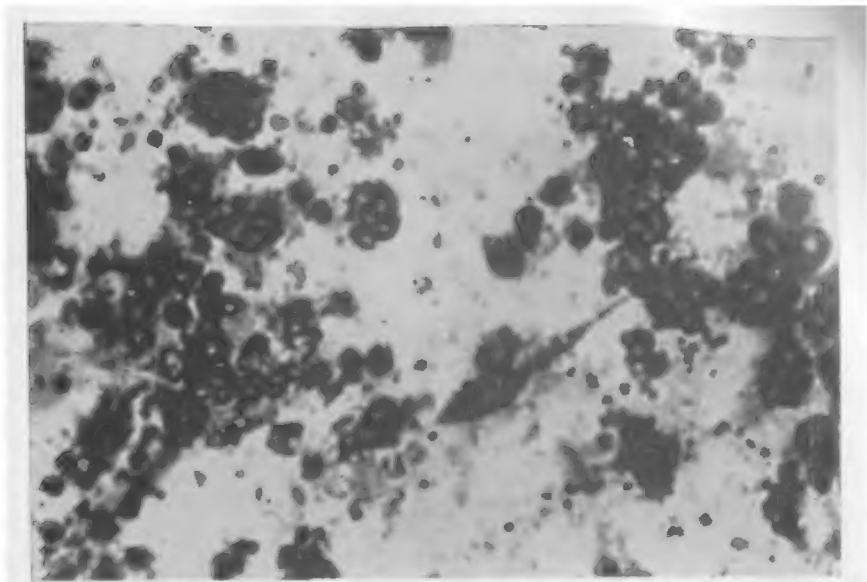


Фото 41. Камера, облученная УФ. Тотальная гибель монослоя. Зернистый распад. Кварцевая подложка. 72 ч контакта. $\times 400$. Культура ткани фибробластов человеческого эмбриона.

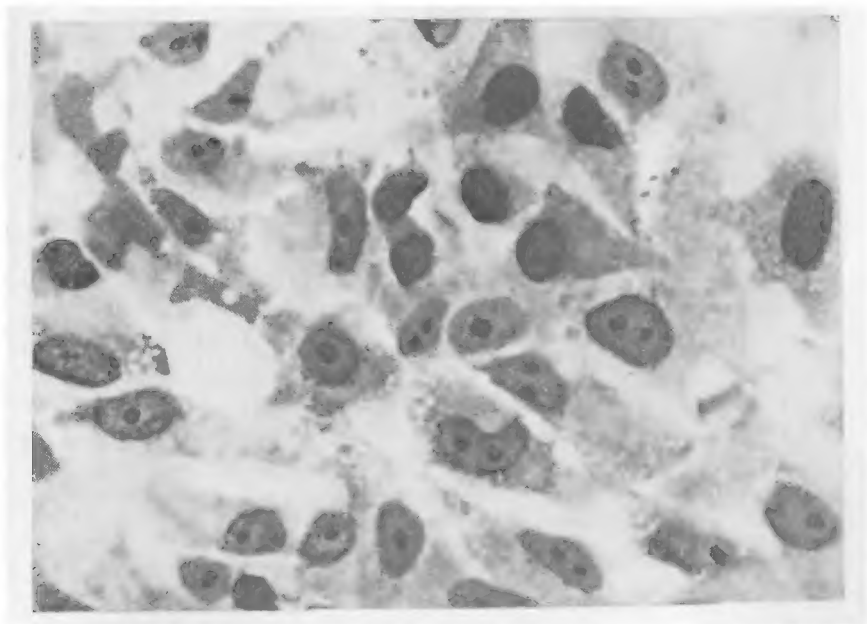


Фото 42. «Зеркальная» камера. Отсутствие эффекта «зеркального» ЦИД. Нормальная культура эмбриона человека. 72 ч контакта. $\times 400$. Стекло-вая подложка.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Г л а в а I. Проблема информационной функции сверхслабого излучения в межклеточных взаимодействиях	5
Г л а в а II. Методы и условия исследования межклеточных взаимодействий	23
Выбор камер	24
Характеристика культуры ткани и питательной среды	27
Подложки для выращивания культуры ткани в камерах	28
Определение экспозиции контакта камер для получения «зеркального» ЦПЭ	29
Общая схема эксперимента	30
Г л а в а III. Дистантное взаимодействие в системе двух клеточных культур при поражении одной из них экстремальным агентом биологической, химической или физической природы	31
Применение в качестве экстремального агента вируса Коксаки А-13	35
Применение в качестве экстремального агента вируса FRV	38
Применение в качестве экстремального агента аденовируса	42
Применение в качестве экстремального агента двуххлористой ртути (сулемы)	44
Получение «зеркального» ЦПЭ при последовательных перепассажах	46
Дистантные межклеточные взаимодействия при действии физического экстремального агента — ультрафиолетовой радиации	46
Дистантные межклеточные взаимодействия при непользовании модели управляемого митотического цикла	50
Оценка достоверности полученных результатов	55
Дистантные межклеточные взаимодействия в системе двух гетерогенных клеточных культур	59
Г л а в а IV. Электромагнитная природа дистантных межклеточных взаимодействий	66
Г л а в а V. Влияние гелиогеомагнитной обстановки на дистантные межклеточные взаимодействия	82
Г л а в а VI. Обсуждение полученных результатов	98
Литература	110
Приложение	121